

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA

E.A.P. DE MEDICINA VETERINARIA

**“DETECCIÓN DE *Salmonella spp.* EN MUESTRAS
DE CARCASAS PORCINAS OBTENIDAS EN
CAMALES DE LIMA”**

TESIS

Para optar el Título Profesional de Médico Veterinario

AUTOR

Salvatierra Rodríguez, Guillermo Santos

Lima – Perú

2014

Esta tesis se la dedico a:

*A mis padres y hermanos, por su
cariño y apoyo durante toda la
carrera.*

*A mis amigos de la universidad con los
que aprendí y compartí muchos
momentos inolvidables*

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Calle, mi directora de tesis, por su confianza y por darme la oportunidad de realizar la tesis.

A Chris Pinto, por su amistad y apoyo en la realización de la tesis, por sus enseñanzas, por retarme cada día a ser mejor, le estoy muy agradecido.

A Juan Siuce, por su amistad y apoyo.

Al Instituto Nacional de Salud, por el apoyo brindado en la serotipificación de mis aislados.

A la Sra. Ana Meza del Instituto Nacional de Salud, por su amistad y enseñanzas.

ÍNDICE

RESUMEN	vi
ABSTRACT	vii
LISTA DE TABLAS Y FIGURAS	viii
I-INTRODUCCIÓN	1
II-REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	
2.1. Antecedentes	3
2.2. Etiología	4
2.2.1. Características generales	4
2.2.2. Factores que afectan el crecimiento y supervivencia	4
2.2.3. Estructura antigénica	5
2.2.4. Clasificación	6
2.2.5. Nomenclatura	10
2.3 Epidemiología	11
2.3.1. Contaminación del ganado porcino en granja	13
2.3.2. Contaminación del ganado porcino en el camal	15
2.3.3. Contaminación de las carcasas	16
2.3.4. Implicación de la carne de porcino en las infecciones por <i>Salmonella</i>	19
2.4. Aislamiento e identificación	20
2.4.1. Pre-enriquecimiento no selectivo	20
2.4.2. Enriquecimiento selectivo	21
2.4.3. Siembra y aislamiento en medios de cultivo selectivos	21
2.4.4. Caracterización bioquímica	24
2.4.5. Serotipificación	29
III-MATERIALES Y MÉTODOS	31
3.1. Diseño del estudio	31
3.2. Lugar de ejecución y periodo de duración	31
3.3. Selección y tamaño de muestra	31
3.4. Materiales usados durante el muestreo	32
3.5. Materiales usados en el laboratorio	33
3.6. Equipos	33
3.7. Reactivos y Medios de cultivo	33
3.8. Recolección de muestras	34

3.9. Procesamiento de la muestra	34
3.9.1. Pre-enriquecimiento no selectivo	35
3.9.2. Enriquecimiento selectivo	35
3.9.3. Siembra en medios de cultivo selectivos	35
3.9.4. Pruebas bioquímica	35
3.9.5. Serotipificación	36
3.9.5.1. Serotipificación somática	36
3.9.5.2 Serotipificación flagelar	37
3.9.5.2.1 Método de inversión de fases	37
3.9.5.3. Determinación de los serotipos de las cepas aisladas	38
IV-RESULTADOS	40
V-DISCUSIÓN	44
VI-CONCLUSIONES	48
VII-LITERATURA CITADA	49

RESUMEN

La salmonelosis es considerada una de las zoonosis de origen alimentario de mayor prevalencia y actualmente supone uno de los mayores problemas de seguridad alimentaria. El objetivo del estudio fue detectar la presencia de especies de *Salmonella* spp. en carcasas porcinas destinadas al consumo humano, mediante técnicas de aislamiento. Se utilizaron 300 carcasas porcinas procedentes de dos camales de Lima. Las muestras fueron tomadas mediante hisopados sobre la piel de la carcasa, en cuatro zonas distintas: cabeza, vientre, lomo y pierna, representando en total 1200 submuestras. Las submuestras tomadas, fueron recogidas en tubos Falcon con Agua Peptonada Tamponada y llevadas al Laboratorio de Microbiología y Parasitología de la FMV – UNMSM. Después del pre-enriquecimiento no selectivo en APT, se utilizó el caldo Rappaport Vassiliadis como enriquecimiento selectivo. Posteriormente, para la siembra se usaron medios selectivos: Agar Xilosa Lisina Desoxicolato (XLD) y Agar Salmonella – Shigella (SS). Se realizaron pruebas bioquímicas y serotipificación para su identificación final. De las 300 carcasas examinadas, en 19 de ellas se obtuvieron aislamientos de *Salmonella* spp. lo que representa un porcentaje de positividad de $6.3\% \pm 2.4(19/300)$. Según la zona de muestreo, el resultado fue 21 aislados compatibles con *Salmonella* spp. de un total de 1200 submuestras analizadas, esto debido a que dos carcasas fueron positivas en dos submuestras. El mayor porcentaje de aislamientos se obtuvo de la piel de la cabeza 33.33% (7/21), y vientre 33.33% (7/21), seguida por el lomo 23.81% (5/21) y finalmente de la pierna 9.52% (2/21) Los aislados fueron serotipificados, e identificados como *Salmonella* Derby. Conocer los niveles de contaminación de las carcasas porcinas permite determinar la necesidad de implementar medidas de control contra salmonelosis y ayuda a evaluar si su implementación permite reducir el porcentaje de carne de cerdo contaminada que llega al consumidor.

Palabras clave: *Salmonella* spp., salmonelosis, carcasas porcinas, camales, salud pública

ABSTRACT

Salmonellosis is considered one of the most prevalent foodborne zoonotic diseases. In developed countries, is now one of the biggest problems of food security. The aim of the study was to detect the presence of *Salmonella* spp. on pig carcasses intended for human consumption, by isolation techniques. Three hundred pig carcasses from two slaughterhouses in Lima were used. Samples were taken by swab on the skin of the carcasses, in four different areas: head, stomach, back and leg, representing a total 1200 subsamples. The subsamples were collected in Falcon tubes with Buffered Peptone Water and taken to the Laboratory of Microbiology and Parasitology, FMV - UNMSM. After the non-selective pre - enrichment in BPW, Rappaport Vassiliadis broth was used as selective enrichment. Subsequently, Xylose Lysine Deoxycholate Agar (XLD) and *Salmonella* - Shigella Agar (SS) selective medias, were used. Biochemical and serological tests for final identification were performed. Of the 300 cases examined, 19 isolates of *Salmonella* spp were obtained, representing $6.3\% \pm 2.4(19/300)$. According to the sampling area, the result was 21 isolates compatible with *Salmonella* spp. From a total of 1200 sub-samples analyzed, because two carcasses were positive in two subsamples. The highest percentage of isolates were obtained from the skin of the head, 33.33 % (7/ 21), and 33.33 % belonged to the belly (7/21), followed by the back with 23.81 % (5 /21) and finally 9.52 % from the leg (2/21). Isolates were serotyped and identified as *Salmonella* Derby. Knowing the levels of contamination of pig carcasses helps to determine the need to implement control measures against *Salmonella* and helps to assess whether implementation can reduce the percentage of contaminated pork that reaches the consumer.

Key words: *Salmonella* spp., salmonellosis, pig carcasses, slaughterhouses, public health

LISTA DE CUADROS Y FIGURAS

- Cuadro 1:** Factores que afectan al crecimiento y la supervivencia de *Salmonella* spp. Pág 5.
- Cuadro 2:** Serovariedades y principales hábitats para las diferentes subespecies de *Salmonella* spp. Pág 10.
- Cuadro 3:** Principales fuentes de *Salmonella* spp Pág 12.
- Cuadro 4:** Incidencia de *Salmonella* en las carcasas despojes de varias etapas en el proceso de carnización. Pág 16.
- Cuadro 5:** Incidencia de *Salmonella* en carcasas porcinas según diversos autores. Pág 17.
- Cuadro 6:** Incidencia de *Salmonella* spp en diferentes fuentes (carcasas, derivados cárnicos y muestras de ambientes de expendios de carne de cerdo) reportada en diferentes países. Pág 18.
- Cuadro 7:** Características de las colonias de *Salmonella* spp. en medios selectivos y diferenciales. Pág 22.
- Cuadro 8:** Propiedades bioquímicas diferenciales de las subespecies de *Salmonella*. Pág 26.
- Cuadro 9:** Pruebas bioquímicas de *Salmonella enterica* subesp. *enterica* (I). Pág 26.
- Cuadro 10:** Pruebas bioquímicas diferenciales entre *Salmonella* Typhi, *Salmonella* Paratyphi A y *Salmonella* spp. Pág 27.
- Cuadro 11:** Caracteres bioquímicos diferenciales entre *Salmonella enterica* subesp. (I) y *Proteus mirabilis*. Pág 27.
- Cuadro 12:** Caracteres bioquímicos diferenciales entre *Salmonella enterica* subesp.(I) y *Citrobacter freundii*. Pág 27.
- Cuadro 13:** Resultados de pruebas bioquímicas de los aislados. Pág 42.
- Cuadro 14:** Porcentaje de animales positivos al aislamiento de *Salmonella* según granja muestreada. Pág 41.
- Figura 1:** Porcentaje de carcasas positivas y negativas a aislamientos de *Salmonella* spp. Pág 39.

Figura 2: Porcentajes de aislamientos de *Salmonella* spp. según submuestras, considerando el total de aislados positivos: cabeza (7/21), vientre (7/21), lomo (5/21) y pierna (2/21). Pág 40.

Figura 3: Porcentaje de carcasas positivas según granja de procedencia. A: 7.78% (7/90); B: 6.25% (5/80); C: 10% (3/30); D: 6.67% (4/60); E: 0% (0/20); F: 0% (0/20). Pág 41.

I. INTRODUCCIÓN

Los microorganismos del género *Salmonella* pertenecen a la familia *Enterobacteriaceae*, en ella se encuentran las bacterias Gram negativas aerobias o anaerobias facultativas, en formas de bastón o bacilos. Estos microorganismos son conocidos como “patógenos universales”, por tener un amplio rango de hospedadores (D’Aoust y Maurer, 2007).

Los principales reservorios de *Salmonella* son los animales portadores asintomáticos y las fuentes de infección más frecuente son los alimentos o los productos derivados de estos. El aumento de la incidencia de *Salmonella* spp., es de gran impacto tanto en salud pública como en salud animal y se ha relacionado con un incremento de la diseminación de los microorganismos a través de las cadenas productivas animales (Uribe y Suárez, 2006).

Salmonella, junto con *Campylobacter*, son los agentes zoonóticos más frecuentemente aislados en casos de gastroenteritis de origen alimentario tanto en Europa como en los Estados Unidos (CDC, 2006; EFSA, 2007). Los casos declarados de toxico-infecciones por *Salmonella* en Europa son 73 por cada 100’000 habitantes, con importantes variaciones entre países en función del método diagnóstico, la comunicación de datos y también los hábitos culinarios de cada país. Se estima que la incidencia real de salmonelosis en la Unión Europea puede rondar los 450 casos anuales por cada 100’000 habitantes con 3 muertos por cada millón (Berends *et al.*, 1998).

En la producción porcina, la contaminación de la carne porcina por *Salmonella*, puede producirse en cualquier etapa de la cadena cárnica: desde las materias primas para la alimentación del animal, la fabricación del pienso, la granja, la planta de sacrificio, hasta los centros de elaboración de productos cárnicos. En el momento del sacrificio el contenido intestinal conteniendo los patógenos puede contaminar la carcasa y la piel de los animales. Los errores cometidos en la cadena alimentaria transforman el riesgo potencial en una verdadera multiplicación bacteriana (Lindner, 1995). Debido a eso, el control de este microorganismo en la carcasa es importante para evitar la diseminación del agente a los seres humanos (Mejía, 2007).

En un estudio se comprobó que el sacrificio de una partida con un 21% de animales portadores producía una contaminación por *Salmonella* en el 5% de las carcasas (Kranker *et al*, 2003). Un trabajo en Alemania sobre casi 12'000 porcinos demostró la existencia de un 6.2% de animales portadores y un 4.7% de carcasas contaminadas. Estudios realizados en Dinamarca, han demostrado que durante el proceso de beneficio, las cepas de *Salmonella* llegan a contaminar la superficie de la carcasa, existiendo una correlación positiva entre los niveles de *Salmonella* en las granjas y su presencia sobre la superficie de las carcasas (Käsbohrer *et al*, 2000).

El control de *Salmonella* es primordial debido a la existencia de barreras comerciales de índole sanitarias en la importación de carne. Un mejoramiento en los estándares de seguridad alimentaria aportaría mejor calidad del producto. El mejor ejemplo de este enfoque es el desarrollo de programas de control de Dinamarca (desde 1993) y Suecia, países netamente exportadores que han disminuido los niveles de salmonelosis en la población.

El objetivo del presente estudio fue determinar la presencia de especies de *Salmonella* spp. en carcasas porcinas destinadas al consumo humano, mediante técnicas de aislamiento. Se aplicaron métodos microbiológicos diagnósticos, y se caracterizaron los aislados empleando análisis bioquímico y la serotipificación con antisueros específicos.

II-REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. ANTECEDENTES

El nombre *Salmonella* se debe al veterinario y bacteriólogo Daniel E. Salmon, quien con ayuda de Theobald Smith, aislaron la primera *Salmonella* a partir de intestino de un porcino en 1885, inicialmente considerándolo como agente causal de la Peste Porcina Clásica (PPC). *Salmonella cholerasuis* (actualmente *Salmonella enterica* subespecie *enterica* serovar Cholerasuis), fue la cepa aislada, sin embargo, esta se consideró como una bacteria oportunista en cerdos inmunosuprimidos por agentes infecciosos tales como el virus de la PPC (Schwartz, 1991).

Entre otros eventos relacionados con este patógeno se encuentra el famoso caso de Mary Mallon, también conocida como “María la Tifosa”, ejemplo claro de un portador crónico, siendo la primera persona en ser identificada como una portadora sana de Fiebre Tifoidea en Estados Unidos. Ella trabajó como cocinera en Nueva York y en Long Island a comienzos del siglo XX, en casas de huéspedes e instituciones de beneficio. En análisis realizados en las heces de esta mujer, se hallaron gran cantidad de *Salmonella* Typhi, agente etiológico de la fiebre tifoidea. Ella se opuso a recibir tratamiento y escapó de las autoridades sanitarias cuando determinaron que constituía un foco de infección. En Nueva York, infectó a 22 personas, pasó por diferentes familias, diseminando el agente, cambió su nombre e infectó a 25 personas más, y causó dos muertes. Un tiempo después fue capturada, conducida a prisión y permaneció bajo custodia en Nueva York durante 23 años. Falleció en 1938, por neumonía no relacionada a *Salmonella* (Brock, 1999).

2.2. ETIOLOGÍA

2.2.1. Características generales

El género *Salmonella* se incluye en la familia *Enterobacteriaceae*. Se caracterizan por ser bacilos Gram negativos, de 0,7-1,5 x 2,0-5µm, móviles por flagelos peritricos (excepto *Salmonella Gallinarum* y *Salmonella Pullorum*), anaeróbicos facultativos, no esporulados. No fermentan la lactosa (excepto *Salmonella arizonae* y *Salmonella diarizonae*), fermentan glucosa con producción de gas (excepto *Salmonella Thypi*), la mayoría producen H₂S, son oxidasa negativos, catalasa positivos, indol, urea y Voges Proskauer negativos, Citrato de Simmons positivo, descarboxilan la lisina y la ornitina. La mayoría son patógenos para los humanos, sin embargo, pueden ser patógenos para otros hospedadores como mamíferos, aves, reptiles, anfibios e incluso plantas por lo que son conocidos como “patógenos universales”, por su amplio rango de hospedadores (Edwards y Edwing, 1972; Grimont y Weill, 2007; Caffer *et al.*, 2008).

2.2.2 Factores que afectan el crecimiento y supervivencia

Salmonella posee una temperatura óptima de crecimiento de 35 - 43°C, siendo la temperatura mínima de crecimiento importante en los alimentos refrigerados (Cuadro 1). El ritmo de crecimiento de *Salmonella* se reduce sustancialmente a temperaturas inferiores a 15°C, mientras que el crecimiento de la mayoría de salmonelas está inhibido a temperaturas inferiores a los 7° C (ICMSF, 1998).

A temperaturas bajas, la muerte de salmonela es mayor durante el proceso de congelación que durante el tiempo que puede permanecer congelado un alimento. El descenso de la viabilidad de las salmonelas es mucho mayor en el intervalo de temperaturas entre 0°C y -10°C que entre el de -17°C a -20°C (ICMSF, 1998). Por otro lado, cuando se sobrepasa la temperatura máxima de crecimiento (47°C) sobreviene la muerte. La tasa de muerte aumenta a medida que aumenta la temperatura. La temperatura máxima de crecimiento es importante como valor por encima del cual deben de ser mantenidos los alimentos almacenados calientes para impedir el crecimiento de *Salmonella*. Si bien serían suficientes 55°C, en las disposiciones con frecuencia especifican 63°C (Forsythe, 2003).

Cuadro 1. Factores que afectan al crecimiento y la supervivencia de *Salmonella* spp.

Parámetro	Rango de crecimiento		
	Mínimo	Óptimo	Máximo
Temperatura	5°C	33-43°C	45-47°C
pH	4	6,5-8,2	9,5
Actividad agua	0,94	0,99	-
%ClNa	-	-	4% - 5%
Velocidad de crecimiento (td) 10 horas/generación, 10°C			
D60= 33 seg -- 6,5 min			

Fuente: Borch *et al.*, 1996; ICMSF, 1998; Bello *et al.*, 2000; CE, 2000B; Doyle *et al.*, 2000 ; Mossel *et al.*, 2002.

Por lo general, las salmonelas pueden ser fácilmente destruidas por una pasteurización y suele bastar una media hora de tratamiento térmico a 60°C para inactivarlas, temperatura que debe alcanzar al centro de masa del producto (carne, pollo, pasteles, etc.). Así mismo, cuando la temperatura se eleva hasta los 72°C pueden bastar solamente 15 segundos para su destrucción, aunque la eficacia térmica va a depender del serotipo. Sin embargo, cuando se trata de alimentos deshidratados se necesitan tratamientos más intensos porque bajo estas condiciones las células presentan una mayor fortaleza frente a los tratamientos térmicos (Bello *et al.*, 2000). La evidencia más reciente indica que la exposición prolongada de cepas mesófilas a condiciones de estrés térmico se traduce en mutantes capaces de crecer a 54°C (Doyle *et al.*, 2000).

Salmonella es capaz de crecer en medios aerobios y anaerobios inactivándose por la luz, desinfectantes comunes y su supervivencia disminuye a pH ácido (Coma, 2001). Dicha supervivencia variará en función del tipo de ácido presente: el ácido cítrico apenas les afecta, pero en medio acético con pH 4,0 pueden ser destruidas en pocas horas (Bello *et al.*, 2000).

Tratamientos de alta presión hidrostática inactivan a *Salmonella*, siendo bastantes resistentes a la acción de nitritos y de la sal (Garriga *et al.*, 2003).

2.2.3. Estructura Antigénica

La estructura antigénica de *Salmonella* spp. es muy parecida a la de otras enterobacterias, presenta: Antígeno O, Antígeno H y Antígeno Vi (Parra *et al.*, 2002).

La envoltura externa de las bacterias del género *Salmonella* está compuesta por 3 capas: la membrana interna, la pared de peptidoglucano y la membrana externa (Brock, 1999). Ésta última, ampliamente estudiada está compuesta por fosfolípidos, lipopolisacáridos (LPS) y proteínas. El LPS está compuesto de un lípido A embebido en la membrana externa, una región central, y una región antigénica O.

El antígeno O, llamado también antígeno somático, está compuesto por complejos de fosfolípidos y polisacáridos, su composición es aproximadamente 60% polisacáridos, 20-30% lípidos y 3,5-4% hexosamina. Se encuentra en todas las bacterias Gram negativas. (Brock, 1999). La cadena de polisacáridos del Ag O es un polímero de unidades repetidas de oligosacáridos (de 3 a 5 azúcares) lineales o ramificados. La naturaleza de los grupos terminales y el orden en que se encuentran las unidades repetidas de la cadena determina la especificidad antigénica de la bacteria. Como esta estructura difiere ampliamente entre las distintas serovariedades, hay diferencias en la especificidad antigénica O (Caffer *et al.*, 2008).

La mayoría de serotipos de *Salmonella* son móviles, debido a la presencia de flagelos. Estos, son una estructura compleja que consiste en un cuerpo basal, un segmento de unión (“hook”) y un filamento. El cuerpo basal ancla el flagelo a la envoltura de la célula y el “hook” une el cuerpo basal con el filamento, constituido por flagelina, una proteína de alto peso molecular. El antígeno flagelar es conocido como antígeno H. Generalmente las bacterias del género *Salmonella* poseen dos fases flagelares (difásicos) diferenciables por medio de aglutinación. Las bacterias que sólo expresan una fase son denominadas monofásicas. La expresión de estas fases (Fase 1 o Fase 2), depende de los genes estructurales que posean (Parra, *et al.*, 2002).

Las salmonelas carecen de una cápsula propiamente dicha, conocida como antígeno K. En su lugar, existe el Antígeno Vi, presente únicamente en 3 serotipos del género: *Salmonella* Typhi, *Salmonella* Paratyphi, y algunas cepas de *Salmonella* Dublin (Raffatellu *et al.*, 2006).

2.2.4. Clasificación

A lo largo de los años, los nombres dados a *Salmonella* no han seguido las normas usuales de la nomenclatura. En un inicio, y siguiendo el principio de la nomenclatura

Linneana, el nombre se formaba asociando la enfermedad con el origen zoológico (Frobisher, 1978; Falkow y Mekalanos, 1996). Así, por ejemplo, el microorganismo responsable del proceso tifoideo en roedores recibió el nombre de *S. typhimurium*. Esta forma de denominar las nuevas “especies” fue abandonada puesto que el nombre asignado al microorganismo dejaba suponer una especificidad de hospedador, lo cual no siempre era cierto (López-Brea, 1980; Le Minor *et al.*, 1982).

Kauffman subdividió el género *Salmonella* en cuatro subgéneros (I-IV) sin asignarles ningún nombre especial. Los serotipos pertenecientes a cada uno de estos subgéneros recibió un nombre en función de su fórmula antigénica y siguiendo el esquema establecido por Kauffman y White. En 1966, el Subcomité de *Enterobacteriaceae*, decidió que para designar en adelante a los nuevos serotipos del subgénero I, había que añadirle un epíteto que indicase el origen geográfico de la primera cepa aislada. Por ejemplo, *S. bialfra* y *S. panama*; los nuevos serotipos de los otros subgéneros serían asignados por su fórmula antigénica. Sin embargo, ciertos serotipos de los subgéneros II y IV habían recibido nombres antes de la decisión de 1966: *S. bilthoven* del subgénero II y *S. houten* del subgénero IV. Por ello, ese mismo año, Ewing propuso una nueva clasificación, modificando la anteriormente realizada por Kauffman. Ewing, la clasificó en tres especies: *S. choleraesuis* (especie tipo), *S. typhi* y *S. enteritidis*. Esta última agruparía a todos los serotipos de *Salmonella*, exceptuando *S. choleraesuis* y *S. typhi*. La especie sería escrita en los caracteres itálicos o bien subrayando el nombre, mientras que el serotipo estaría representado en caracteres romanos y su primera letra iría en mayúscula. Ejemplo, *S. enteritidis* ser. Typhimurium (Le Minor *et al.*, 1982).

Hasta 1970, la taxonomía de *Salmonella* y la nomenclatura existente por entonces, se basaba únicamente en el estudio de los caracteres bioquímicos y antigénicos. Ese mismo año, Le Minor *et al.* (Moustardier, 1976), subdividen el género en cuatro especies que se corresponderían con los subgéneros de Kauffman:

- *S. kauffmanni*: subgénero I de Kauffman
- *S. salamae*: subgénero II de Kauffman
- *S. arizonae*: subgénero III de Kauffman
- *S. houtenae*: subgénero IV de Kauffman

La nomenclatura propuesta por estos autores para su clasificación fue que para los serotipos pertenecientes al subgénero I de Kauffman: *S. kauffmanni* ser Typhimurium, etc. Para los serotipos pertenecientes a los otros subgéneros: *S. salamae*, *S.arizonae* o *S. houtenae*, le seguiría la fórmula antigénica. Por ejemplo: *S. salamae* 13, 22 : Z39 : 1, 5, 7.

En 1973, los estudios genómicos (hibridación ADN/ADN) llevados a cabo por Crosa *et al.*, y años más tarde, por Storew *et al.* (Le Minor *et al.*, 1982), mostraron que las salmonelas del subgénero I, III y IV, estaban reunidas en grupos de hibridación diferentes y que era posible cuantificar los parentescos genómicos entre estos grupos.

En 1982, Le Minor *et al.* realizaron el estudio de los caracteres fenotípicos y genómicos de un amplio grupo de salmonelas pertenecientes a los subgéneros I, II, III y IV de Kauffman, así como un número de cepas atípicas: grupo bongor. El análisis de los resultados, en taxonomía numérica, les permitió reconocer siete grupos fenotípicos y seis grupos genómicos (Le Minor *et al.*, 1982). La correlación existente entre los resultados de los dos métodos les llevó a dividir *Salmonella* en 6 taxones (Taxón: grupo formado por la combinación de caracteres fenotípicos y genómicos). Basado en este estudio, *Salmonella* constituiría una especie única que comprendería 6 subespecies a su vez subdivididas en serotipos. Estos autores propusieron, conforme a las reglas del Código Internacional de Nomenclatura Bacteriana (CINB), la siguiente nomenclatura para el género *Salmonella* (Le Minor *et al.*, 1982):

Especie única *S. choleraesuis*

- **Para el taxón 1:** *S. choleraesuis* subespecie *choleraesuis*. Correspondería al subgénero I de Kauffman.
- **Para el taxón 2:** *S. choleraesuis* subespecie *salamae*. Correspondería al subgénero II.
- **Para el taxón 3:** *S. choleraesuis* subespecie *arizonae*. Este taxón agruparía los serotipos monofásicos del subgénero IIIa.
- **Para el taxón 4:** *S. choleraesuis* subespecie *diarizonae*. Agruparía los serotipo difásicos del subgénero IIIb.

- **Para el taxón 5:** *S. choleraesuis* subespecie *houtenae*. Correspondería al subgénero IV.
- **Para el taxón 6:** *S. choleraesuis* subespecie *bongori*.

Así pues, estos subgrupos se incluían en única especie, que posteriormente se denominaría *Salmonella choleraesuis* (Le Minor *et al.*, 1982). Poco después, Le Minor y Popoff (1987) propusieron que estos 7 subgrupos (I, II, IIIa, IIIb, IV, V, VI) fueran considerados subespecies y recomendaron además el cambio de nombre de *Salmonella choleraesuis* por el de *Salmonella enterica*, ya que se prestaba a confusión debido a la existencia de un serotipo denominado Choleraesuis. Por último, en 1989 fue elevada al rango de especie la hasta entonces denominada subespecie bongori o subgrupo V (Reeves *et al.*, 1989). Recientemente se ha rechazado el nombre de *Salmonella choleraesuis* como especie (Tindall *et al.*, 2005).

La clasificación actual de *Salmonella* es extremadamente compleja. Su caracterización da como resultado la división del género en dos especies: *S. enterica* y *S. bongori*. A su vez, *S. enterica* se subdivide en 6 subespecies basándose en las diferencias bioquímicas (Cuadro 2). El género *Salmonella* está a su vez, dividido por serología en más de 2579 serovares, mediante el esquema de Kauffman-White. Esta clasificación define al serogrupo de acuerdo a la expresión del antígeno somático O del LPS, y al serovar por la expresión del antígeno flagelar H. Las diferentes combinaciones entre los 46 antígenos O y 114 antígenos H descritos, permite reconocer los diferentes serotipos. Este método ha sido de gran utilidad para comprender la epidemiología de este patógeno (Tillier y Collins, 2000; McQuinston *et al.*, 2008).

La subespecie más frecuentemente aislada es *Salmonella enterica* subespecie *enterica* (I). Su reservorio corresponde principalmente a mamíferos (Cuadro 2) y es la causa más común de enfermedad en el hombre y animales. Las otras subespecies de *Salmonella enterica* y *Salmonella bongori* pueden ocasionalmente causar enfermedad en el humano.

Cuadro 2. Serovariedades y principales hábitats para las diferentes subespecies de *Salmonella* spp.

Especies	Subespecies	N° de serovariedades	Principales hábitats
<i>Salmonella enterica</i>	subesp. <i>enterica</i> (I)	1531	Animales de sangre caliente
	subesp. <i>salamae</i> (II)	505	Animales de sangre caliente / fría y ambiente
	subesp. <i>arizonae</i> (IIIa)	99	Animales de sangre fría y ambiente
	subesp. <i>diarizonae</i> (IIIb)	336	Animales de sangre fría y ambiente
	subesp. <i>houtenae</i> (IV)	73	Animales de sangre fría y ambiente
	subesp. <i>indica</i> (VI)	13	Animales de sangre fría y ambiente
<i>Salmonella bongori</i> (antes Subespecie V)		22	Animales de sangre fría y ambiente
Total		2579	

Fuente: Grimont y Weill, 2007.

2.2.5. Nomenclatura

Sobre la base de los componentes antigénicos somáticos O y flagelares H se ha establecido lo que se denomina el “Esquema de Kauffmann-White”, que agrupa a todas las serovariedades conocidas. La información que contiene está ordenada de la siguiente manera (Caffer *et al.*, 2008):

- *Primera columna:* indica el nombre de la serovariedad, si la misma pertenece a *S. enterica* subesp. *enterica* (I) o las siglas *S. II*, *S. IIIa*, *S. IIIb*, *S. IV*, *S. V*, *S. VI*; indicando que la serovariedad considerada pertenece a la subespecie II ó IIIa, etc.
- *Segunda columna:* Antígenos somáticos O. los números indican el o los factores del antígeno O y se escriben, separados por una coma.
- Las serovariedades son agrupadas en grupos somáticos, cada uno de ellos caracterizado por un factor O mayor. Así determinan los grupos A, B, C, etc. Por ejemplo el grupo O:2 (A) está integrado por *S. Paratyphi A* (1,2,12:a:-).
- *Tercera y cuarta columna:* Antígenos flagelares H. Se indican los factores de las fases 1 y 2 del antígeno H. Para la fase 1, los factores se denominan con letras minúsculas, seguidas algunas veces por un número que figura como subíndice y para la fase 2 se emplean en general números arábigos, aunque

también se utilizan letras minúsculas. Un signo “negativo” indica que la fase considerada está ausente y por lo tanto la serovariedad es monofásica.

- Los símbolos para los factores somáticos determinados por conversión fágica están subrayados.
- []: los factores O y H entre corchetes, no subrayados, pueden estar presentes o ausentes sin relación con la conversión fágica. Por ejemplo el factor [5] del grupo O:4(B). Cuando los factores H están entre corchetes significa que ellos se encuentran excepcionalmente en cepas salvajes.

Ejemplo: Salmonella Typhimurium 1,4,5,12:i:1,2. El Ag O es 1,4,5,12, el Ag H(Fase 1): es i, el Ag H(Fase 2) es 1,2. Las dos fases flagelares están presentes, por lo tanto la serovariedad es difásica.

2.3 Epidemiología

Salmonella se encuentra distribuida por todo el mundo y es universalmente reconocida como agente zoonótico (ICMSF, 1998). La omnipresencia de *Salmonella* (Cuadro 3) en el medio natural, junto con los sistemas de producción intensiva que se utilizan en las industrias de la carne, del pescado y del marisco, y el reciclado de despojos y materiales crudos en los piensos animales, han fomentado la importancia continua de este patógeno en la cadena alimentaria global (Doyle *et al.*, 2000). Se han identificado numerosos reservorios animales y muchos alimentos, particularmente los de origen animal, contaminados con este microorganismo (CE, 2000). Vive en el tracto intestinal de los animales infectados, incluido el hombre, y se excreta a través de las heces, pudiendo permanecer viable en el material fecal durante años fuera del huésped (ICMSF, 1998).

La salmonelosis es una zoonosis que se notifica con mayor frecuencia en los países desarrollados, ya que poseen mejores sistemas de notificación. Es una enfermedad de origen alimentario. Durante las últimas dos décadas *Salmonella* Enteritidis ha sido reconocida como uno de los principales agentes etiológicos que causan infecciones gastrointestinales a nivel mundial (Rodríguez *et al.*, 1992; Silva *et al.*, 2000).

Cuadro 3. Principales fuentes de *Salmonella* spp.

Animales	Ganado porcino, vacuno, ovino y caprino: tracto intestinal, nódulos linfáticos, amígdalas, faringe Aves: tracto intestinal Caballos, gatos, perros, camellos, búfalos, elefantes, canguros, liebres visones, conejos, murciélagos, ballenas, delfines, ratas, ratones, cobayos Tortugas, culebras, lagartos, cocodrilos Ranas, sapos Caracoles, cucarachas Moscas Mariscos
Alimentos	Chocolate, leche en polvo, leche fresca, huevos, queso, paté, frutas, helados, brote de alfalfa, carnes curadas, sándwiches, carne de ave, salsas, aderezos de ensaladas, gelatina, manteca, cacao
Instalaciones	Suelo, mesas de trabajo
Equipos	Camal: cuchillos, máquinas de esquinado, flageladora, peladora, agua
Operarios	Operarios: botas, manos, etc.

Fuente: Frazier y Westhoff, 1993; Borch *et al.*, 1996; ICMSF, 1998; Davies *et al.*, 1999 ; Bello *et al.*, 2000 ; CE, 2000 ; Doyle *et al.*, 2000 ; Willeberg, 2000 ; Giovannacci *et al.*, 2001; Swanenburg *et al.*, 2001; Bolton *et al.*, 2002; Hurd *et al.*, 2002; Botteldoorn, 2003; Araújo y Carballo, 2004; Erickson *et al.*, 2004.

Se estima que la incidencia de salmonelosis en la Unión Europea puede rondar los 450 casos anuales por cada 100'000 habitantes, con tres muertos por cada millón de habitantes (Coma, 2001). La mortalidad es más elevada en las poblaciones de riesgo: niños, personas de avanzada edad o población con el sistema inmune debilitado. En personas con SIDA la salmonelosis se produce con frecuencia 20 veces superior a la registrada en pacientes normales (Eley, 1994).

La incidencia de salmonelosis en los Países Bajos es de 450 casos por 100'000 habitantes, de los cuales el 15% están asociados al consumo de cerdo. En Dinamarca hay 95 casos por 100'000 habitantes, de los cuales entre el 10-15% son atribuidos al consumo de cerdo (Bolton, 2002).

En España, *Salmonella* es el principal agente biológico causante de enfermedad de origen alimentario, siendo la especie más frecuente *Salmonella* Enteritidis seguida por *S. Typhimurium* (Fos *et al.*, 2000). En Sudamérica, los primeros hallazgos de infecciones con este microorganismo ocurrieron a mediados de la década 1990 y 1999, originando brotes epidémicos en Argentina, Brasil y Chile (Irino *et al.*, 1996; Fica *et al.*, 1997).

En Chile, *Salmonella* Enteritidis emergió con características epidémicas en 1994, afectando a gran número de personas, con tasas de ataque que aumentaron en 3000%

con respecto a años anteriores (Silva *et al.*, 2000). Durante el periodo epidémico, 1994-1996, 90% de las notificaciones de casos con infecciones por este microorganismo provinieron de África y Antofagasta, gran parte de estas infecciones fueron atribuidas al consumo de huevos (Fica *et al.*, 1997).

Desde el punto de vista epidemiológico, las infecciones por *Salmonella* pueden causar pequeños brotes en la población en general, sin embargo, el 60-80% de los casos son esporádicos; a veces se producen grandes brotes en hospitales, jardines maternos, geriátricos y restaurantes. La fuente más frecuente de infección son los alimentos contaminados en su origen, o con menor frecuencia durante su manipulación por un portador; es también importante la transmisión persona a persona (Caffer *et al.*, 2001). La vía tradicional de infección es la ingestión, siendo también posible la transmisión por aerosoles (Willeberg, 2000).

La contaminación por *Salmonella* del porcino puede producirse en cualquier etapa de la cadena cárnica: desde las materias primas para la alimentación animal, la fabricación del pienso, la granja, la planta de sacrificio, la sala de despiece, los centros de elaboración, hasta la conservación y preparación del producto cárnico por el consumidor en el hogar (Caffer *et al.*, 2001).

2.3.1. Contaminación del ganado porcino en granja

La presencia de *Salmonella* en los cerdos de cebo es un hecho habitual y bien conocido desde hace décadas (McKinley *et al.*, 1980). Como en muchas otras especies hospedadoras, la infección puede presentarse clínicamente (como un cuadro septicémico o en forma de enteritis) y generalmente se asocia al serotipo Cholerasuis. La forma asintomática es mucho más frecuente y cursa con la excreción intermitente de la bacteria a lo largo de periodos de tiempo que pueden ser muy prolongados (Gray *et al.*, 1996; Carvajal *et al.*, 2000; Althouse *et al.*, 2003; Malorny y Hoorfar, 2005).

Entre los más de 2500 serotipos conocidos, el más relevante en ganado porcino, asociado a la forma asintomática, es Typhimurium (en sentido estricto, *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serotipo Typhimurium), que constituye el prototipo de serovar no especializado, capaz de colonizar un gran número de especies animales (Kingsley y

Bäumler, 2000). Aunque las infecciones por este serotipo en el ganado porcino suelen ser asintomáticas, igualmente pueden cursar como un proceso entérico autolimitante.

También pueden aislarse muchos otros serotipos, cuya relevancia varía dependiendo de la localización geográfica. Así, por ejemplo, en Estados Unidos y algunos países del Este de Europa es bastante habitual aislar el serotipo Choleraesuis (*Salmonella enterica* subsp. *enterica* serotipo Choleraesuis), que está considerada la serovariedad adaptada al porcino, a partir de casos de septicemia o enterocolitis, mientras que en ciertas localizaciones de Europa y Estados Unidos el serovar Derby supone un porcentaje representativo del total de aislados de origen porcino (Beran y Baum, 1997; Hoszowski y Wasyl, 2002; Van Duijkeren *et al*, 2002; Kranker *et al*, 2003; Frutos *et al*, 2005). En España las serovariedades más frecuentemente aisladas de muestras porcinas son Typhimurium (37%), Rissen (20%), Hadar (13%), Derby (11%) y Agona (7%) (Frutos *et al*, 2005).

Durante muchos años, cada país ha sido el reservorio de unos serotipos específicos, hasta el punto que la población desarrollaba un cierto nivel de inmunidad colectiva frente a sus actividades patógenas, que se reflejaba en una evolución de sus brotes hacia manifestaciones más benignas (Bello *et al.*, 2000; Coma, 2001).

Sin embargo, en la actualidad, no sólo ha crecido el número de serotipos identificados en cada país, sino que muchos de ellos responden a estirpes nuevas, que significan mayor gravedad desde el punto de vista sanitario. Por ejemplo en España, han pasado de estar afectados solamente por tres serotipos: *S. Typhimurium*, *S. Enteritidis* y *S. Paratyphi A*, hasta un número bastante numeroso de ellos: *S. Heidelberg*, *S. Rhodesiense*, *S. Newport*, *S. Panama*, *S. Dublin*, *S. Derby*, *S. Abony*, etc. (Bello *et al.*, 2000).

La extensión de las infecciones por *Salmonella* en las granjas porcinas es muy variable, con cifras que vienen condicionadas además por el tipo de muestreo y por las limitaciones de sensibilidad y especificidad de muchos procedimientos diagnósticos (Malorny y Hoorfar, 2005). Tomando como ejemplos algunos países, en Cataluña, una de las grandes zonas de producción porcina de España, el 23% de las granjas porcinas de cebo presentan algún portador fecal (Mejía Silva, 2003).

El número de cerdos infectados en las explotaciones positivas suele ser relativamente bajo, aunque también se ha detectado una gran variabilidad. Mientras que en Iowa,

Estados Unidos, los excretores fecales activos apenas llegan al 1% del total de animales analizados (Hurd *et al.*, 2002), en Dinamarca el promedio de excretores fecales activos se sitúa en el 5%, aunque en algunas explotaciones alcanza el 17% (Kranker *et al.*, 2003). Obviamente el número real de portadores de *Salmonella* es mucho mayor que el de excretores, dado que la eliminación de *Salmonella* por heces es intermitente, si bien los datos actuales tampoco descartan la posibilidad de reinfecciones sucesivas dentro de un grupo de animales (Kranker *et al.*, 2003; Nielsen *et al.*, 1997).

En Iowa, con un 1-2% de excretores fecales, se detectaron un 5% de portadores cuando los animales fueron sacrificados y se procedió al cultivo de los contenidos cecales y los ganglios linfáticos digestivos (Hurd *et al.*, 2002). En ese mismo estado, otro estudio logró detectar un 31% de portadores en contenidos cecales y un 13% en ganglios linfáticos (Rostagno *et al.*, 2003), indicando que existe una gran variabilidad incluso en el mismo ámbito geográfico. En el estudio llevado a cabo en Cataluña se detectó una prevalencia del 3.4% en reproductoras y de un 2.1% en cerdos de cebo (Mejía Silva, 2003). En cualquier caso, la dinámica de la infección en las explotaciones afectadas es compleja, ya que el número de animales seropositivos llega a cuadruplicar el número de animales de los que es posible aislar *Salmonella* (5.3% vs. 20% en un estudio en Iowa) (McKean, 2001).

Finalmente, resulta destacable que en las granjas de tipo intensivo lo más habitual es encontrar que los cerdos están colonizados de forma asintomática por un número reducido de serotipos, frecuentemente uno solo (situación que se observa en un 82% de las granjas en Cataluña) (Mejía Silva, 2003). Además, cuando se realizan controles rutinarios, no es extraño comprobar que este serotipo persiste a lo largo del tiempo en los sucesivos lotes de cebo que se van introduciendo en la explotación (Baloda *et al.*, 2001). En animales criados en régimen extensivo es, por el contrario, frecuente aislar un gran número de serotipos, que probablemente reflejan una exposición más intensa a una gran variedad de fuentes de contaminación (Jensen *et al.*, 2004).

2.3.2. Contaminación del ganado porcino en el matadero

Cuando se procede a analizar las heces de los cerdos después del transporte al matadero y la estabulación en el mismo, el porcentaje de cerdos infectados se incrementa vertiginosamente. Además, aumenta la variabilidad de los aislados, debido a

la aparición de serotipos que no habían sido detectados en la granja de origen (Beloeil *et al.*, 2004; Hurd *et al.*, 2001). En el estudio danés, los promedios pasaron de un 5% de excretores fecales en granja a un 18% en el matadero (Kranker *et al.*, 2003).

En un estudio en Iowa, el transporte y estabulación al matadero incrementaba el número de los excretores fecales desde el 2% hasta el 25% y el total de portadores del 5% al 40%, mientras que el número de serovariedades presentes en los animales prácticamente se duplicaba (Hurd *et al.*, 2002). Este tipo de resultados han llevado a la conclusión de que en el periodo previo al sacrificio, los cerdos son expuestos a fuentes de contaminación exógenas, aunque no se puede descartar completamente la reactivación de infecciones latentes producidas por serotipos que no han podido ser detectados en granja. En cualquier caso, el número de portadores de *Salmonella* se incrementa de forma considerable, hasta en 7 veces (Hurd *et al.*, 2002).

2.3.3. Contaminación de las carcasas

Resulta lógico asumir que la presencia de *Salmonella* en una gran proporción de los cerdos sacrificados implica un alto riesgo de contaminación de las carcasas.

Cuadro 4. Incidencia de *Salmonella* en las carcasas después de varias etapas en el proceso de carnización

LOCALIZACIÓN	INCIDENCIA (%)		SEROTIPOS	
	Pierce <i>et al.</i>	Bolton <i>et al.</i>	Pierce <i>et al.</i>	Bolton <i>et al.</i>
Antes del transporte	-	27	-	<i>S. Agona</i>
Después de la ducha	-	10	-	<i>S. Agona</i> , <i>S. Typhimurium</i>
Después del sangrado	31	50	<i>S. Hadar</i> , <i>S. Typhimurium</i> <i>S. Derby</i> , <i>S. Infantis</i>	<i>S. Typhimurium</i>
Después del escaldado	1	0	<i>S. Derby</i>	-
Después del pelado	7	-	<i>S. Typhimurium</i> , <i>S. Derby</i>	-
Después del chamuscado	0	0	-	-
Después del flagelado	0	-	-	-
Después de la ducha	-	7	-	<i>S. Agona</i>
Después del eviscerado	7	0	<i>S. Typhimurium</i>	-
Después del lavado	-	0	-	-
Después del oreo	-	0	-	-

Fuente: Bolton *et al.*, 2002; Pearce *et al.*, 2004.

De hecho, se admite, como regla general, que el número de carcasas contaminadas al final del faenado va a ser directamente proporcional al número de portadores fecales en el momento del sacrificio. En Dinamarca se ha estimado que los cerdos portadores tienen 3-4 veces más posibilidades de producir una carcasa contaminada que los animales libres de *Salmonella* (Berends *et al.*, 1997). *Salmonella* pasa principalmente a la carcasa durante las operaciones de aturdido, pelado, flagelado, eviscerado y esquinado (Cuadro 4) (Borch *et al.*, 2002).

En un estudio se comprobó que el sacrificio de una partida con un 21% de animales portadores producía una contaminación por *Salmonella* en el 5% de las carcasas (Kranker *et al.*, 2003), lo que resulta coherente con la estimación de que alrededor del 5-30% de las carcasas producidas en Dinamarca contienen *Salmonella* (Berends *et al.*, 1997). Un trabajo en Alemania sobre casi 12.000 porcinos demostró la existencia de un 6.2% de animales y un 4.7% de carcasas contaminadas (Cuadro 5) (Käsbohrer *et al.*, 2000).

Cuadro 5. Incidencia de *Salmonella* en carcasas porcinas según diversos autores

Autor	Incidencia / País
Christensen y Luthje (1994)	8% en Dinamarca
Saide-Albornoz <i>et al.</i> (1995)	1.7% en Estados Unidos
Korsak <i>et al.</i> (1998)	27% en Bélgica
Kasbohrer <i>et al.</i> (2000)	6.2% en Alemania
Swanenburg <i>et al.</i> (2001)	1.4% en Países Bajos
Hurd <i>et al.</i> (2002)	Amplio rango desde 0.4% a 76.3% en Estados Unidos
Bolton <i>et al.</i> (2002)	32% en Irlanda
Bonardi <i>et al.</i> (2003)	6% en Italia, 30% en Bélgica
Botteldoorn <i>et al.</i> (2003)	1.4% en Alemania, 76.3% en Reino Unido
Imberechts y Dierick (2004)	15.4% en Bélgica
Eblen <i>et al.</i> (2005)	6.9% en Estados Unidos

Con todo, la asociación entre animales vivos portadores y carcasas contaminadas dista mucho de seguir una relación consistentemente lineal. En el estudio danés, después del sacrificio de una partida con un 72% de portadores, no pudo detectarse contaminación por *Salmonella* en ninguna carcasa (Kranker *et al.*, 2003). Probablemente esta variabilidad venga determinada por la influencia de otros muchos factores.

Factores que pueden influenciar la variabilidad de resultados (Cuadro 6):

- El grado de implantación de las buenas prácticas de manipulación, especialmente en el puesto de evisceración, hasta el punto de que se ha sugerido que un faenado adecuado puede reducir los recuentos totales en las carcasas hasta en un logaritmo. En un estudio, la adopción de precauciones especiales durante el eviscerado y chamuscado consiguió reducir la contaminación por *Salmonella* del 46% al 7% (Mead, 1994).

Cuadro 6: Incidencia de *Salmonella* spp en diferentes fuentes (carcasas, derivados cárnicos y muestras de ambientes de expendios de carne de cerdo) reportada en diferentes países

País	Fuente	Prevalencia (%)	Referencia
Colombia (Tolima)	Carcasa	3.32	Arcos <i>et al.</i> , (2013)
Colombia (Bogotá)	Carcasa	27.2	Mora (2003)
Colombia (Bogotá)	Carcasa	37.82	Mejía (2007)
Canadá	Carcasa	17.7	Mainar-Jaime <i>et al.</i> , (2008)
Dinamarca	Carcasa	3.2	Arguello <i>et al.</i> , (2013)
Alemania	Carcasa	15.7	Hotes <i>et al.</i> , (2010)
Bélgica	Carcasa	37	Botteldoorn <i>et al.</i> , (2003)
Irlanda	Carcasa	10.63	Prendergast <i>et al.</i> , (2010)
Irlanda	Carcasa	5.9	Mannion <i>et al.</i> , (2012)
Holanda	Carcasa	10	Swanenburg <i>et al.</i> , (2001)
Etiopía	Carcasa	4	Aragaw <i>et al.</i> , (2007)
Colombia (Tolima)	Carcasa	12.79	Arcos <i>et al.</i> , (2013)
Holanda	Ambiente	29.4	Swanenburg <i>et al.</i> , (2001)
Brasil (Porto Alegre)	Procesados	24.4	Mürmann <i>et al.</i> , (2009)

- La contaminación cruzada a partir de los manipuladores, el equipo y las instalaciones. En el mejor de los casos, aproximadamente un 70% de la contaminación de las carcasas procede de los propios animales infectados, mientras que un 30% procede de otras fuentes por contaminación cruzada (Berends *et al.*, 1997). Otros trabajos demuestran que más del 50% de las carcasas contaminadas presentan tipos de *Salmonella* diferentes de los que portaba ese animal *in vivo* (Wonderling *et al.*, 2003).

El problema de la contaminación cruzada es demasiado complejo y es influenciado por la eficacia de los planes de limpieza y desinfección, el tipo de equipamiento y la realización o no de un sacrificio logístico (Guedeja-Marrón y

Delgado; 2006) y que viene fuertemente condicionado por la gran capacidad de supervivencia de *Salmonella* en el medio ambiente (Mead, 1994). En estudios para evaluar factores de riesgo en Francia, se determinó que la higiene en el camal es un factor muy importante para reducir la contaminación por *Salmonella* y que el material de las paredes es crucial en el proceso de desinfección (Fablet *et al.*, 2003). Según sus resultados, determinaron que se debe evitar el concreto, ya que este material es difícil de limpiar por la porosidad que presenta, facilitando el depósito de materia orgánica y contribuyendo de esta manera a la supervivencia bacteriana (Dahl *et al.*, 1997).

- La realización de procedimientos de descontaminación de las carcasas, que se usan habitualmente en Estados Unidos pero que no están permitidos para ninguna especie en la Unión Europea, aunque se prevé su futura autorización para carne de ave (Delgado *et al.*, 2005; Guedeja-Marrón y Delgado, 2005; Guedeja-Marrón y Delgado 2006).

2.3.4. Implicación de la carne de porcino en las infecciones por *Salmonella*

La contaminación efectiva de las carcasas por bacterias del género *Salmonella* no resultaría relevante si su presencia no supusiera un peligro real para el consumidor final. En este sentido, lo cierto es que la carne de cerdo no ha sido considerada históricamente como uno de los alimentos más implicados en los casos de salmonelosis de la población. Sin embargo, desde hace varios años, algunos estudios epidemiológicos han confirmado la importancia de la carne de cerdo como vector de *Salmonella*, aunque sin llegar a desplazar a los productos aviares como los principales implicados en estas toxiinfecciones (*Salmonella* Project Group, 2000).

Así, se ha estimado que la carne de porcino fue responsable de un 14- 19% de los casos de salmonelosis humana en Dinamarca en 1997 y del 10-15% en 1998. En Alemania las cifras para el año 1997 fueron aún superiores (18-23%) (*Salmonella* Project Group, 2000).

Las últimas estimaciones cifran la implicación de la carne de cerdo en 9% de los casos de salmonelosis humana (Hald *et al.*, 2004). En este sentido, es probable que la carne de porcino contribuya de forma significativa a los casos de salmonelosis humana

por el serotipo Typhimurium, cuya capacidad para provocar enfermedad en la población parece muy superior a la de otras servovariedades igualmente frecuentes en el ganado porcino (como el serotipo Derby) (Sarwari *et al.*, 2001). Además, hay que tener en cuenta que las cepas multirresistentes son bastante frecuentes en porcino (Gebreyes *et al.*, 2004). Por ello, toda reducción de la contaminación por *Salmonella* en la carne de porcino constituye un mecanismo para la protección de la salud de los consumidores.

Muchos autores han coincidido en afirmar que la fuente inicial de contaminación del cerdo con *Salmonella* son los cerdos portadores asintomáticos (Berends *et al.*, 1996). Por lo tanto, el papel de los portadores asintomáticos en la transmisión de *Salmonella* es muy importante, suponiendo una verdadera amenaza para la salud pública (Borch *et al.*, 2002).

Durante su transporte y estabulación en el matadero, los cerdos pueden adquirir *Salmonella* a partir del propio vehículo de transporte, a partir de los corrales y a partir de las prácticas de manejo (Hurd *et al.*, 2002). Algunas recientes investigaciones han demostrado que la contaminación durante el transporte y el reposo en corrales es la mayor fuente de infección por *Salmonella* en mataderos de cerdos (Hurd *et al.*, 2002; Rostagno *et al.*, 2003; Gebreyes *et al.*, 2004).

2.4. Aislamiento e identificación

El aislamiento microbiológico de *Salmonella* spp. mediante la utilización de medios de cultivo y la posterior identificación bioquímica han sido los métodos más usados para el diagnóstico. Una gran variedad de medios selectivos se han desarrollado para este propósito, los cuales se fundamentan en características bioquímicas simples. De forma general, el método microbiológico utilizado con mayor frecuencia por su alta sensibilidad, se basa en la norma ISO 6579 (2002) de la siguiente manera:

2.4.1. Pre-enriquecimiento no selectivo

Utilizado donde el número de bacterias del género *Salmonella* es muy bajo o las células pueden no estar viables. Es muy útil en camales, debido a los procesos de desinfección a las que son sometidas las carcasas. Se utiliza el agua peptonada tamponada (APT), que tiene gran capacidad de tampón y sin azúcar fermentable. El pH

de la APT es básico, lo que suprime el crecimiento de muchas otras bacterias intestinales promoviendo el crecimiento de *Salmonella* (Hoorfar y Montersen, 2000). La muestra se incuba a temperatura ambiente o en estufa a 37°C por 24 horas.

2.4.2. Enriquecimiento selectivo

Se caracteriza por suprimir la flora competitiva y promover el enriquecimiento selectivo de *Salmonella* spp. Existen una gran variedad de caldos selectivos, los más conocidos son: el caldo Rappaport – Vassiliadis (RVS), caldo Tetrationato (TTO) y el caldo Selenito. El caldo RVS fue propuesto por Vassiliadis, y modificado por Rappaport. Este caldo es muy selectivo, especialmente a 41-43°C con previo enriquecimiento.

La concentración de verde de malaquita y cloruro de magnesio inhiben el crecimiento de la flora acompañante, en tanto que favorecen la multiplicación de *Salmonella*. El caldo TTO, contiene además, tiosulfato. Ambos inhiben a coliformes y otras bacterias acompañantes. En cambio, todas las bacterias reductoras de tetrationato, como por ejemplo, *Salmonella* y *Proteus*, pueden multiplicarse sin obstáculos. Las sales biliares inhiben considerablemente a todos los microorganismos de presencia no obligatoria en el intestino. El SC inhibe el crecimiento de bacterias intestinales coliformes y *Enterococcus*, principalmente a las primeras 6-12 horas de incubación. No inhibe *Salmonella*, *Proteus* y *Pseudomonas*. Se incuba a 42°C en RVS, y a 37°C en SC. Se incuba a 41- 43°C por 24 horas.

Dusch y Alttwegg (1995) compararon seis medios de cultivo para el aislamiento de *Salmonella* spp. y encontraron que el Rappaport Vassiliadis semisólido modificado (MSRV) fue el medio más sensible y específico.

2.4.3. Siembra y aislamiento en medios de cultivo selectivos

La siembra se basa en la selectividad de los medios por la presencia de sustancias inhibitoras y la diferenciación mediante la adición de sustancias que permiten la fácil identificación de colonias típicas de *Salmonella* frente a otros microorganismos. Las características más usadas son la producción de sulfuro de hidrógeno y la incapacidad de fermentar lactosa. Para el aislamiento se utilizan medios diferenciales y selectivos

como: agar MacConkey (MC), agar Eosina Azul de Metileno (EMB), agar *Salmonella Shigella* (SS), agar Xilosa Lisina Desoxicolato (XLD), agar Hektoen (HE), agar verde brillante (BG). Las placas se incuban a 37°C durante 18 a 24 horas y se observan colonias, de 2 mm de diámetro, con las características indicadas en el Cuadro 7.

-Agar McConkey: es un agar selectivo para el aislamiento de *Salmonella*, *Shigella* y coliformes, a partir de heces, orina, alimentos, aguas residuales, etc. Las sales biliares y el cristal violeta inhiben considerablemente la flora gram positiva. La lactosa, junto con el indicador de pH rojo neutro, sirven para la comprobación de su fermentación. *Salmonella* es lactosa negativa, sus colonias son diminutas, de crecimiento aislado e incoloras (McConkey, 1905).

Cuadro 7. Características de las colonias de *Salmonella* spp. en medios selectivos y diferenciales

Medio de cultivo	Selectividad	Aspecto de las colonias
Agar MacConkey	Baja	Incoloras
Agar EMB	Baja	Incoloras
Agar SS	Alta	Incoloras con centro negro
Agar XLD	Alta	Rojas con centro negro Verdes-Azuladas con centro
Agar HE	Alta	negro
Agar BG	Alta	Rosadas pálidas

-Agar EMB: agar Eosina Azul de metileno-lactosa-sacarosa, es selectivo para la demostración y aislamiento de enterobacterias patógenas. El contenido en lactosa y sacarosa hacen posible la distinción de *Salmonella* y *Shigella* lactosa negativas y sacarosa negativas, frente a la flora acompañante lactosa negativa, pero sacarosa positiva como *Proteus*, *Citrobacter*, *Aeromonas*. Las colonias de *Salmonella* son transparentes, de color ambar (Atlas y Parks, 2004).

-Agar SS: agar *Salmonella-Shigella*, para el aislamiento de *Salmonella* y *Shigella*, a partir de heces, alimentos y otros materiales. El verde brillante, la bilis de buey y la elevada concentración de tiosulfato y de citrato inhiben considerablemente la flora acompañante. Con el tiosulfato y sales de hierro se pone de manifiesto la formación de

sulfuro de hidrógeno, por el ennegrecimiento de las colonias. Las colonias de las coliformes quedan señaladas por la demostración de la fermentación de lactosa a ácido, por el indicador de pH rojo neutro. Las colonias de *Salmonella* son incoloras, de centro negro (APHA, 1984).

-Agar XLD: agar Xilosa Lisina Desoxicolato, para el aislamiento y diferenciación de enterobacterias, específicamente de especies de *Salmonella* y *Shigella*. La degradación a ácido de la xilosa, lactosa y sacarosa produce un viraje a amarillo del indicador de pH rojo de fenol. El tiosulfato y las sales de hierro revelan la formación de sulfuro de hidrógeno, por la precipitación de un color negro en las colonias. El efecto inhibitorio de este medio de cultivo es débil, el sodio desoxicolato inhibe el crecimiento de la flora contaminante Gram-positiva. La mayoría de las enterobacterias patógenas, a excepción de la *Shigella*, fermentan la Xilosa. El ácido producto de la fermentación de la Xilosa, lactosa o sacarosa, produce un viraje a amarillo del Rojo de Fenol contenido en el medio. Los microorganismos que descarboxilan la lisina, como *Salmonella*, se reconocen por presentar colonias rojo-anaranjadas debido al aumento del Ph que han provocado en el medio y el consecuente viraje del Rojo de Fenol. La lisina se incluye para aumentar la diferenciación de los microorganismos pertenecientes al género *Salmonella*, ya que sin la lisina estos microorganismos rápidamente fermentan la xilosa produciendo la acidificación del medio y no se pueden diferenciar de otras especies.

Como la cantidad de este carbohidrato es limitada, una vez que estos microorganismos lo consumen, comienzan a utilizar la lisina lo cual produce la alcalinización del medio; este hecho se evidencia porque el rojo fenol nuevamente vira a un color rojo. En el caso de los coliformes lisina positiva, para prevenir la alcalización del medio por la utilización de la lisina, se incorpora en el medio un exceso de lactosa y sacarosa. Las colonias de *Salmonella* son transparentes con centro negro (APHA, 1984).

-Agar HE: agar Hektoen, selectivo para la demostración y aislamiento de bacterias intestinales patógenas, inclusive *Shigella* a partir de diversos materiales. Por la presencia de dos indicadores: azul de bromotimol y fucsina ácida, se diferencian las colonias de bacterias lactosa positivas de las negativas, las primeras toman un color amarillo anaranjado y las segundas un azul verdoso. Los microorganismos que fermentan la sacarosa y la salicina también toman un color amarillo anaranjado. La

presencia de sacarosa y salicina evita la selección de patógenos falsamente positivos. Con el Sodio Tiosulfato y el hierro, se detectan los productores de sulfuro de hidrógeno por el precipitado negro que presentan en el centro de las colonias. La presencia de sales biliares inhibe el crecimiento de una gran parte de la flora acompañante. Las colonias de *Salmonella* son azul verdosas con el centro negro (APHA, 1984).

-Agar BG: agar Verde Brillante rojo fenol lactosa, selectivo para aislamiento de *Salmonella* (con excepción de *S. Typhi*) en heces, orina, carnes, leche y otros materiales. El medio contiene lactosa, cuya degradación a ácido se reconoce por el viraje a amarillo del Rojo de fenol, que actúa como indicador de pH. En ambiente alcalino, presenta color rojo intenso. La flora acompañante Gram positiva, así como *S. Typhi* y *Shigella* resultan muy reprimidas por la presencia del verde brillante. Las colonias de *Salmonella* son rosa pálido, transparentes y con halo rojo (Atlas y Parks, 2004).

Se siembra en al menos dos medios de cultivo selectivos y se incuba a 37-38 °C por 18-24 horas. La identificación requiere la realización de pruebas bioquímicas y de serotipificación, de distinta complejidad, dependiendo de la capacidad del laboratorio.

2.4.4. Caracterización bioquímica

Las subespecies tienen características bioquímicas que las diferencian entre sí (Cuadro 8). La mayoría de las serovariedades (99,8%) de *Salmonella* aisladas del hombre y de los animales de sangre caliente pertenecen a *Salmonella enterica* subesp. *enterica* (I) y tienen propiedades bioquímicas características (Cuadro 9), siendo excepciones las serovariedades *S. Typhi* y *S. Paratyphi A* (Cuadro 10).

Algunas cepas de *Salmonella* spp. se pueden confundir con otras enterobacterias productoras de SH₂ como *Proteus mirabilis* y *Citrobacter freundii* que son comensales del aparato digestivo del hombre y de los animales de sangre caliente, pero que no son enteropatógenos (Cuadros 11 y 12).

Las pruebas bioquímicas necesarias para la identificación de una *Salmonella* spp. y sus subespecies, son las siguientes:

-TSI: Agar Hierro Tres Azúcares, permite diferenciar bacilos entéricos Gram-negativos basándose en su diferente capacidad de fermentación a los tres azúcares (glucosa, sacarosa y lactosa) y producción de sulfhídrico. La degradación del azúcar da lugar a la formación de ácido que se detecta por un cambio de color del rojo de fenol que pasa de anaranjado a amarillo, mientras que si el medio sufre una alcalinización pasa de anaranjado a rojo/púrpura. Los microorganismos que sólo fermentan la glucosa (que se encuentra en una concentración 10 veces inferior a los otros azúcares), como *Salmonella* y *Shigella*, si bien producen el viraje al amarillo, éste sólo se mantiene en la columna vertical (base del tubo) mientras que la superficie inclinada restablece el color rojo por oxidación del ácido. El color amarillo obtenido en la acidificación del medio producida por la fermentación de la sacarosa o de la lactosa es persistente. Los cultivos que contienen microorganismos capaces de formar Sulfuro de hidrógeno presentan el característico precipitado negro. La producción de gas se observa por la formación de burbujas e incluso por la rotura del propio gel (Atlas y Parks, 2004).

Cuadro 8. Propiedades bioquímicas diferenciales de las subespecies de *Salmonella*

Pruebas bioquímicas	<i>S. enterica</i> subesp. enterica (I)	<i>S. enterica</i> subesp. salamae (II)	<i>S. enterica</i> subesp. arizonae (IIIa)	<i>S. enterica</i> subesp. diarizonae (IIIb)	<i>S. enterica</i> subesp. houtenae (IV)	<i>S. enterica</i> subesp. indica (VI)	<i>S. bongori</i> (V)
Dulcitol	+	+	-	-	-	d	+
ONPG	-	-	+	+	-	d	+
Malonato	-	+	+	+	-	-	-
Gelatina	-	+	+	+	+	+	-
Sorbitol	+	+	+	+	+	-	+
KCN	-	-	-	-	+	-	+
Tartrato de Jordan's	+	-	-	-	-	-	-
Mucato	+	+	+	(-) 70%	-	+	+
Salicina	-	-	-	-	+	-	-
Lactosa	-	-	(-) 75%	(+) 75%	-	d	-
Hábitat de la mayoría de las cepas	Animales de sangre caliente		Animales de sangre fría y medio ambiente				

+: 90% o más de los resultados son positivos; -: 90% o más de los resultados son negativos; d: diferentes reacciones

Cuadro 9. Pruebas bioquímicas de *Salmonella enterica* subesp. *enterica* (I)

Pruebas bioquímicas	Lactosa***	ONPG	Producción de SH ₂	Glucosa (fermentación)***	Dulcitol (fermentación)***	Adonita (fermentación)***	Lisina descarboxilasa **	Ornitina descarboxilasa **	Arginina dehidrolasa	Urea (hidrólisis)**	Indol	Gelatina (hidrólisis)****	Rojo de Metilo *	Voges Proskauer *	Citrato de Simmons *	Malonato (utilización)*
<i>Salmonella enterica</i> subesp. <i>enterica</i> (I)	-	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	+	-

*Lectura a los 2 días, **4 días, ***7 días, ****30 días

Cuadro 10. Pruebas bioquímicas diferenciales entre *Salmonella* Typhi, *Salmonella* Paratyphi A y *Salmonella* spp.

P. bioquímicas	S. Typhi	S. Paratyphi	Salmonella spp.
SH ₂	Trazas	-	+
Lisina descarboxilasa	+	-	+
Ornitina descarboxilasa	-	+	+
Arginina dehidrolasa	-	-	+
Glucosa (gas)	-	+	+
Citrato de Simmons	-	-	+

+: 90% o más de los resultados son positivos; -: 90% o más de los resultados son negativos

Cuadro 11. Caracteres bioquímicos diferenciales entre *Salmonella enterica* subesp. *enterica* (I) y *Proteus mirabilis*.

Pruebas bioquímicas	<i>Salmonella enterica</i> subesp. <i>enterica</i> (I)	<i>Proteus mirabilis</i>
SH ₂ (TSI)	+	+
Urea (hidrólisis)	-	+
Fenilalanina desaminasa	-	+
Lisina descarboxilasa	+	-
Ornitina descarboxilasa	+	+
Lactosa (fermentación)	-	-
Dulcita (fermentación)	+	-
ONPG	-	-

+: 90% o más de los resultados son positivos; -: 90% o más de los resultados son negativos

Cuadro 12. Caracteres bioquímicos diferenciales entre *Salmonella enterica* subesp.(I) y *Citrobacter freundii*

Pruebas bioquímicas	<i>Salmonella enterica</i> subesp. <i>Enterica</i> (I)	<i>Citrobacter freundii</i>
SH ₂	+	+
Urea (hidrólisis)	-	d
Lisina descarboxilasa	+	-
Ornitina descarboxilasa	+	d
Lactosa (fermentación)	-	d
Sacarosa (fermentación)	-	d
Dulcitol (fermentación)	+	d
Malonato (fermentación)	-	d
ONPG	-	+

+: 90% o más de los resultados son positivos; -: 90% o más de los resultados son negativos; d: diferentes reacciones

-LIA: Agar Hierro Lisina permite determinar los microorganismos capaces de descarboxilar la lisina, produciendo un cambio de color del púrpura de bromocresol. Sin embargo, esta descarboxilación sólo se puede hacer en un medio ligeramente ácido, que se consigue con la fermentación de glucosa, por ello esta prueba está limitada a los microorganismos capaces de utilizar la glucosa. Cuando el pH del medio baja, el indicador vira a amarillo. Al alcalinizar el medio debido a la descarboxilación de la lisina, el indicador (púrpura de bromocresol) vira a rojo púrpura. Los cultivos que contienen microorganismos capaces de formar sulfuro de hidrógeno presentan un precipitado negro. Además pueden aparecer burbujas de gas, que pueden incluso desplazar el medio (Atlas y Parks, 2004).

-Citrato de Simmons: Este medio contiene sales inorgánicas de amonio como única fuente de nitrógeno y citrato como única fuente de carbono. Los coliformes muestran su incapacidad de desarrollo, mientras que bacterias como *Salmonella*, lo hacen sin dificultad. La presencia de azul de bromotimol hace que el medio, inicialmente verde, pueda cambiar de color por la producción de álcali, a un azul oscuro (Atlas y Parks, 2004).

-SIM: Sulfuro Indol Movilidad, la mezcla de peptonas constituye el elemento nutritivo del medio. La movilidad se manifiesta mediante una turbidez que se forma alrededor de la línea de siembra. El Sodio Tiosulfato y el Amonio Hierro(III) Sulfato permiten poner de manifiesto la formación de Hidrógeno de Sulfuro por el precipitado negro que se forma. La producción del Indol es fácilmente detectable al añadir unas gotas de reactivo de Kovac's al cultivo (Atlas y Parks, 2004).

-Caldo Úrea: dado que no hay más fuente de carbono que la que proviene de la urea, en este medio sólo podrán crecer aquellos microorganismos capaces de consumirla como única fuente de energía, que posean la enzima ureasa. En el proceso de degradación de la urea se produce amoníaco, éste hace variar el color del indicador Rojo de Fenol (de amarillo a rojo) poniéndose así de manifiesto la actividad ureasa (Atlas y Parks, 2004).

-Caldo Dulcitol: un carbohidrato que puede ser fermentado por algunas bacterias, produciendo ácido. El indicador de pH, es el indicador de Andrade, el cual vira a rojo en medio ácido, dando como resultado una prueba positiva (Atlas y Parks, 2004).

-Mucato: caldo que contiene ácido mícico peptona y azul de bromotimol como indicador de pH. Algunas bacterias pueden fermentar el mucato, acidificando el medio. El resultado positivo se da por el viraje del medio a color amarillo (Atlas y Parks, 2004).

-Agar Tartrato de Jordan's: medio que contiene tartrato de sodio y sirve para diferenciar los bacilos entéricos. La fermentación del tartrato acidifica el medio y se puede detectar por la aparición de color amarillo en la parte inferior del tubo. El indicador de pH es el rojo de fenol (Atlas y Parks, 2004).

2.4.5. Serotipificación

La serotipificación consiste en evidenciar por reacciones de aglutinación o floculación, la presencia de antígenos somáticos, capsulares y flagelares. Algunas salmonelas tienen la capacidad de expresar independientemente dos tipos de antígeno H, esta capacidad es única y normalmente se describen como fases. A las cepas que tienen la capacidad de expresar dos fases flagelares se les conocen con el término de “difásica” y son capaces de mostrar variación en sus fases (expresando una de las fases a la vez). La característica difásica, está limitada a *Salmonella enterica* subespecies I, II, IIIb y VI, las otras subespecies IIIa, IV y *Salmonella bongori* son consideradas monofásicas. Existen serotipos que pueden tener variantes monofásicas (McQuinston *et al.*, 2008).

La identificación final de las serovariedades es el resultado de la combinación de las características bioquímicas y de los antígenos somáticos O y flagelares H determinados por serología. En el esquema de Kauffmann – White, se encuentran las bases para establecer esta clasificación (Grimont y Weill, 2007).

La estructura somática se denomina con la letra **O** seguida de números arábigos separados por comas, que corresponden a sus factores, por ej. *S. Typhimurium* O:1,4,5,12; *S. Enteritidis* O:1,9,12 (Caffer *et al.*, 2008).

Los Ag **O** se pueden clasificar de la siguiente manera (Caffer *et al.*, 2008):

1. Factores mayores que identifican el grupo antigénico **O**; por ej., el factor O:4, el factor O:9.
2. Factores menores, que pueden ser:
 - a) Los que tienen poco o ningún valor discriminativo porque siempre están asociados a otro factor; por ej., O:12 que siempre está asociado con O:2, O:4 y O:9, como se presenta en *S. Paratyphi A* O: 1,2,12; *S. Typhimurium* O: 1,4,5,12 y *S. Enteritidis* O: 1,9,12.
 - b) Los que surgen como consecuencia de una modificación química de los Ag mayores; por ej., O:5 resulta de la acetilación de la abecuesa presente en las unidades repetidas del polisacárido responsable de la especificidad O:4,12; O:1 resulta de la inserción de un residuo de glucosa en la galactosa de la cadena de polisacárido, como es el caso de la serovariedad *S. Typhimurium* O:1,4,5,12.

En *Salmonella* se han encontrado más de 60 especificidades antigénicas flagelares. Las diferencias antigénicas surgen debido a variaciones en la estructura primaria (contenido en aminoácidos y orden de ubicación) de las distintas moléculas de flagelina. Unas pocas serovariedades de *Salmonella* poseen una sola fase flagelar, esas cepas se llaman monofásicas, por ej. , *Salmonella* Enteritidis (9,12:g,m:-), *Salmonella* Typhi (9,12 [VI]:d:-); pero la gran mayoría de las serovariedades tienen dos especificidades en su antígeno flagelar o sea son cepas difásicas; por ej., *Salmonella* Typhimurium (1,4,5,12:i:1,2) y *Salmonella* Hadar (6,8:z10:e,n,x), que expresan la fase 1 (identificada en los ejemplos por las fases: i ó z10) y la fase 2 (por las fases: 1,2 y e,n,x respectivamente) (Caffer *et al.*, 2008).

III-MATERIALES Y MÉTODOS

3.1.-Diseño del estudio

La investigación consistió en determinar la presencia de *Salmonella* spp. en carcasas porcinas, mediante el desarrollo de un muestreo no destructivo y una metodología diagnóstica microbiológica. Esta investigación pretendió determinar la presencia de especies y de serotipos de *Salmonella* spp., mediante perfiles bioquímicos y la tipificación serológica respectiva.

3.2.-Lugar de ejecución y periodo de duración

Las muestras fueron tomadas en camales ubicados en Lima Metropolitana, y fueron procesadas en el Laboratorio de Microbiología y Parasitología Veterinaria de la FMV – UNMSM, durante el año 2012.

3.3.-Selección y tamaño de muestra

El muestreo se realizó en la sala de oreo, previo a que las carcasas ingresen a la sala de frío y/o sean sometidas a sanitización. El total de carcasas porcinas a evaluarse fueron 300 y de cada una de ellas se tomó 4 submuestras (Cabeza, Lomo, Vientre, Pierna), con un total de 1200. Cada día de muestreo, se utilizaron 10 carcasas escogidas de manera aleatoria, mediante el uso de una tabla de números aleatorios. El tamaño de muestra se calculó mediante el uso de la fórmula de “Detección de enfermedad”, considerando un nivel de detección del 1% de carcasas contaminadas, a un nivel de confianza del 95%.

Fórmula de Detección de Enfermedad:

$$n = (1 - (1 - a)^{1/D}) \times (N - (D - 1) / 2)$$

Donde:

n=Tamaño de la muestra

N=Tamaño de la población

D= Número de animales enfermos en el rebaño

a= Nivel de confianza

Donde el tamaño de la población está indicado por el total de cerdos beneficiados al año en Lima, que es 849554 (OEEE, 2012).

a= 0.95 (nivel de confianza 95%)

N= 44417.7

D= 1% de la población= 1% de 849554= 8495.54

$$n = (1 - (1 - 0.95)^{1/8495.54}) \times (849554 - (8495.54 - 1) / 2)$$

n = 298 ≈ 300 carcasas

Sub-muestras = 300 x 4 = 1200 submuestras

3.4. Materiales usados durante el muestreo

- Tubos Falcon de 20 ml
- Hisopos estériles
- Plantillas de acrílico de 10 cm x 10 cm
- Agua Peptonada Tamponada (APT)
- Alcohol 70°
- Caja de tecnopor
- Geles refrigerantes
- Guantes de Látex
- Gradillas

3.5. Materiales usados en el laboratorio

- Asa bacteriológica
- Portaobjetos
- Guantes de látex
- Mechero
- Placas Petri 100 x 15 mm estériles
- Placas Petri 35 x 10 mm estériles
- Puntas de micropipeta estériles (100-1000µl)
- Tubos de vidrio estériles
- Gradillas
- Tubos Craigie

3.6. Equipos

- Baño maría a 50°C
- Estufa para incubación a 37°C
- Estufa para incubación a 42°C
- Micropipeta (100 - 1000µl)

3.7. Reactivos y Medios de cultivo

- Antiseros somáticos y flagelares (DENKA SEIKEN)
- Solución fisiológica formolada al 1%
- Solución salina 0.85%
- Agar MacConkey (MC)
- Agar Trypticase de Soya (TSA)
- Agar Xilosa Lisina Desoxicolato (XLD)
- Agar *Salmonella-Shigella* (SS)
- Agar semisólido al 0.7%
- Agar Citrato de Simmons
- Agar Lisina Hierro
- Agar Hierro tres azúcares

- Agar Tartrato de Jordan's
- Caldo Urea
- Caldo Dulcitol
- Caldo Mucato
- Caldo Rappaport Vassiliadis (RVS)
- Caldo Flagelar Ewing's
- Medio SIM
- Reactivo de Kovac's

3.8.-Recolección de muestras

Las muestras tomadas fueron hisopados, utilizando un método “no destructivo de arrastre” con 2 hisopos estériles por muestra. Los hisopos se humedecieron durante cinco segundos antes de la toma de muestra empleando una solución estéril de Agua Peptonada Tamponada (APT).

Posteriormente, con una plantilla de acrílico estéril de 10 cm x 10 cm, de cada carcasa seleccionada se tomaron cuatro muestras superficiales en un área de 100 cm², la cual se delimitó con la plantilla. Se aplicó la mayor presión posible y se frotó el área delimitada 10 veces verticalmente (arriba a abajo) y 10 veces horizontalmente (derecha a izquierda). Las cuatro áreas donde se obtuvieron las muestras fueron: cabeza, vientre, lomo y pierna.

Las muestras tomadas se recogieron en tubos falcon con 10 ml de APT y se homogenizaron mediante agitación. Finalmente, fueron colocadas en una nevera de tecnopor con geles refrigerantes para su transporte al Laboratorio de Microbiología y Parasitología sección Bacteriología, de la FMV-UNMSM.

3.9. Procesamiento de la muestra

En condiciones de completa esterilidad, el procesamiento se realizó en el Laboratorio de Microbiología y Parasitología, sección bacteriología, de la Facultad de Medicina Veterinaria – UNMSM, siguiendo el protocolo adecuado de aislamiento basado en la norma ISO:6579 (2002).

3.9.1. Pre-enriquecimiento no selectivo

Los tubos falcon con APT se incubaron en estufa a 42°C por 24 horas.

3.9.2. Enriquecimiento selectivo

Posteriormente se transfirió de los tubos falcon, 1ml de la solución de APT a un tubo con 9ml de caldo Rappaport Vassiliadis (RVS), y luego se incubaron en estufa a 42°C por 24 horas.

3.9.3. Siembra en medios selectivos

Una vez finalizado el enriquecimiento, se procedió a homogenizar por agitación el contenido de los tubos con RVS. Se introdujo el asa de aro en el interior y se tomó el inóculo para sembrar por agotamiento sobre los agares selectivos: Xilosa Lisina Desoxicolato (XLD) y *Salmonella-Shigella* (SS). Las placas se incubaron en estufa a 42°C por 24 horas.

3.9.4. Pruebas bioquímicas

Posteriormente, se seleccionaron colonias con el aspecto característico de *Salmonella* spp. (Cuadro 6) y se inocularon en los siguientes medios:

-TSI, LIA Citrato de Simmons: con el ansa para punción, se sembraron por estría en la superficie inclinada y por picadura en la columna vertical.

-SIM, Tartrato de Jordan's: con el ansa de punción, se sembraron en picadura en el centro y hasta el fondo del tubo.

-Caldos úrea, mucato y dulcitol: con el ansa rulo se suspendieron colonias bacterianas.

Se incubaron en estufa a 42°C por 24 horas.

3.9.5. Serotipificación

Una vez confirmados los aislados por perfiles bioquímicos, se debe establecer la serovariedad. Se utilizaron antisueros polivalentes y monovalentes (DENKA SEIKEN). Se utilizaron antisueros somáticos y flagelares.

3.9.5.1. Serotipificación somática

La reacción antígeno anticuerpo para la caracterización del serogrupo O de *Salmonella* spp. se hizo en lámina portaobjetos a partir de cultivos de 24 horas en agar tripticasa de soya (TSA), incubados a 37°C. Se confirmó que el cultivo se encuentre en forma lisa, por ausencia de aglutinación en solución fisiológica. Una porción del cultivo se mezcló con solución salina, rotando suavemente la lámina durante 30 segundos. Al haber ausencia de grumos, se realizó la serotipificación somática O como se indica a continuación:

- a. Sobre una lámina de vidrio se enfrentó una pequeña cantidad de cultivo con una gota de antisueros polivalentes (dentro se encuentra alrededor del 98% de serovariedades aisladas del hombre y animales) y se mezcló cuidadosamente con un ansa o un palillo estéril.
- b. Se movió suavemente la lámina, durante 2 minutos como máximo, para favorecer la reacción antígeno anticuerpo y se observó la presencia o ausencia de aglutinación, con luz indirecta.
- c. Al haber aglutinación, se probó con los antisuero de los grupos correspondientes
- d. Posteriormente se probó con los antisueros de factores O.

Si el cultivo en estudio no reacciona con ninguno de los antisueros polivalentes, y bioquímicamente pertenecen al género *Salmonella* puede ser:

- a. Una serovariedad no comprendida en dichos antisueros, en tal caso remitir la cepa a un Laboratorio de Referencia Nacional.
- b. Una serovariedad que presente antígeno de envoltura Vi. En este caso se enfrenta el cultivo con el antisuero Vi. Si la aglutinación el antisuero Vi da

positiva, se hace una suspensión de la bacteria en 1 ml de solución fisiológica, se calienta 30 minutos a 100°C y se repite la aglutinación con el antígeno somático.

3.9.5. 2. Serotipificación flagelar

La caracterización antigénica flagelar se hace a partir de un cultivo en 5ml de caldo flagelar incubado durante 18-24 horas a 37°C. el procedimiento que sigue es:

- a. Del caldo flagelar se separó una alícuota de 0.5 ml en un tubo estéril.
- b. Al caldo flagelar restante se le agregó 5 ml de solución fisiológica formulada al 1% y se dejó una hora a temperatura ambiente.
- c. en tubos de ensayo se colocó una gota de cada uno de los antisueros flagelares polivalentes.
- d. se incubó una hora a 50°C en baño maría y se lee la presencia o ausencia de flóculos con luz indirecta. No se deben agitar los tubos luego de la incubación a fin de no disgregar los flóculos.

Si el cultivo da aglutinación positiva con dos antisueros polivalentes, se trata de una serovariedad difásica y se debe enfrentar a los antisueros de fase H correspondientes. Si aglutina sólo con un polivalente, puede ser una cepa monofásica, o que sea difásica por los resultados de aglutinación O y la expresión de una sola fase, por lo tanto hay que poner en evidencia la fase ausente, usando el “Método de Inversión de Fase”.

3.9.5.2.1 Método de inversión de fase:

Se funden 10 ml de agar semisólido (al 0.7%), se deja enfriar a 50°C. en una placa Petri de 60 mm de diámetro, se mezclan dos gotas del antisuero de la fase flagelar predeterminada con el agar semisólido. Luego se realizan los siguientes pasos:

- a. Se homogeniza con movimientos de rotación y se deja solidificar.
- b. Se siembra una ansada de cultivo sin formular en el centro de la superficie del agar (de la alícuota que se separó anteriormente).
- c. Se incuba a 37°C durante 24 horas. Las bacterias que poseen la fase ya identificada son inmovilizadas por el antisuero. Las células que tienen la fase

no expresada conservan su movilidad y se extienden sobre la superficie del agar.

- d. Luego de la incubación a 37°C, se toma material de la parte externa del desarrollo bacteriano y se enfrenta con el antisuero de la fase esperada.

Si una cepa de *Salmonella* confirmada por aglutinación somática no reacciona con ninguno de los antisueros flagelares polivalentes, hay que tener en cuenta que:

- a. La cepa puede presentar un antígeno flagelar no incluido en el antisuero polivalente, en este caso debe ser remitida al Laboratorio de Referencia Nacional.
- b. Se puede tratar de una cepa inmóvil, por la ausencia de flagelos.
- c. se puede tratar de una cepa con movilidad reducida. En este caso se debe exaltar la movilidad por pasajes sucesivos en tubos de Craigie, que se preparan de la siguiente manera: en tubos de 10x160 mm adicionados con una varilla hueca de 8 cm aproximadamente, se colocan 5 ml de agar al 0.5%. se esteriliza en autoclave a 121°C por 15 minutos. La cepa se siembra en el interior de la varilla, hasta la mitad de la misma, al cabo de 18-24 horas de incubación a 37°C, el inóculo progresa a lo largo del tubo interior y se observa desarrollo bacteriano en el tubo exterior.

Con un ansa rulo, se toma una porción del crecimiento del tubo exterior y se siembra en caldo flagelar, a partir del cual se realizará la serotipificación flagelar.

3.9.5.3. Determinación del serotipos de las cepas aisladas:

A partir de los resultados obtenidos del grupo y antígenos somáticos y flagelares (fases 1 y 2), se determinó el serotipos mediante la fórmula antigénica y el uso del esquema de Kauffman – White (Caffer *et al.*, 2008).

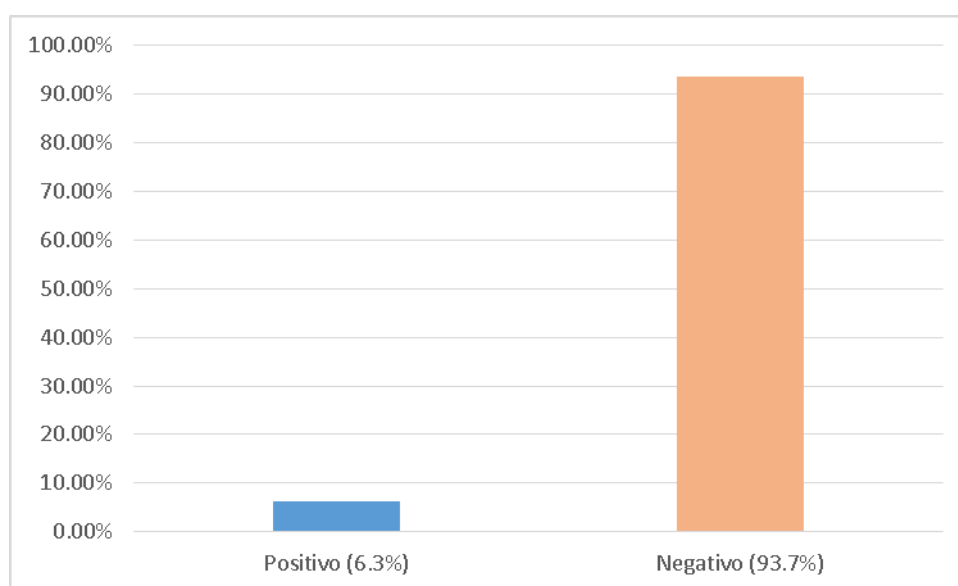
Por ejemplo, la fórmula antigénica: 1,4,5,12:i:1,2 pertenece a *Salmonella* Typhimurium. El antígeno O es 1,4,5,12; el antígeno H (fase 1) es i; el antígeno H (fase 2) es 1,2; las dos fases flagelares están presentes, por lo tanto la serovariedad es difásica.

IV-RESULTADOS

Se realizó un estudio para determinar la presencia de cepas de *Salmonella* en carcasas porcinas destinadas al consumo humano, mediante técnicas de aislamiento, identificación bioquímica y serológica.

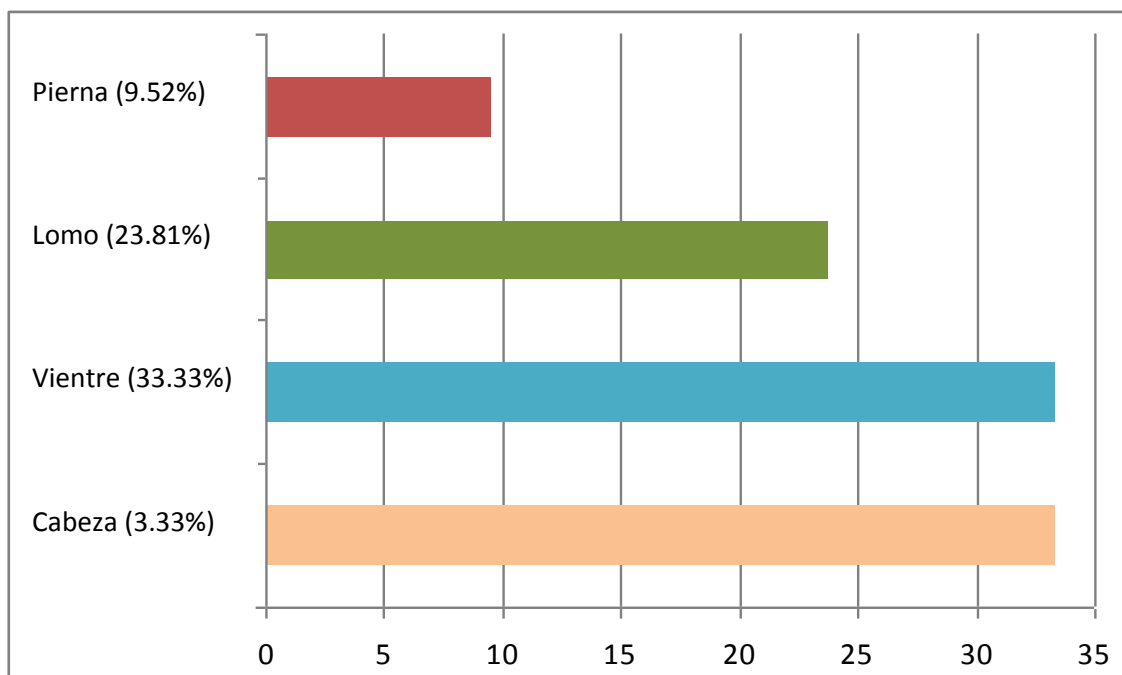
De las 300 carcasas examinadas, en 19 de ellas se obtuvieron aislamientos de *Salmonella* spp. lo que representa un porcentaje de positividad de $6.3\% \pm 2.4$ (19/300) de carcasas porcinas contaminadas con *Salmonella* (Figura 1). Cabe resaltar que se consideró una carcasa como positiva cuando se aisló *Salmonella* spp. de al menos una de sus partes.

Figura 1. Porcentaje de carcasas positivas y negativas a aislamientos de *Salmonella* spp.



De total de las 300 carcasas examinadas se obtuvieron un total de 1200 submuestras. Por cada animal se tomaron cuatro muestras cada una de ellas en una zona distinta de la carcasa (Lomo, vientre, pierna y cabeza). Cuando se hizo el análisis del número de aislamientos según la zona de la carcasa muestreada, se obtuvo un total de 21 aislados compatibles con *Salmonella* spp. de un total de 1200 submuestras analizadas, lo que representa un 7% de positividad del total de submuestras procesadas, esto debido a que dos carcasas fueron positivas en dos submuestras. El mayor porcentaje de aislamientos se obtuvo de la piel de la cabeza 33.33% (7/21), y del vientre 33.33% (7/21), seguida por el lomo 23.81% (5/21) y finalmente de la pierna 9.52% (2/21) (Figura 2).

Figura 2. Porcentajes de aislamientos de *Salmonella* spp. según submuestras, considerando el total de aislados positivos: cabeza (7/21), vientre (7/21), lomo (5/21) y pierna (2/21)

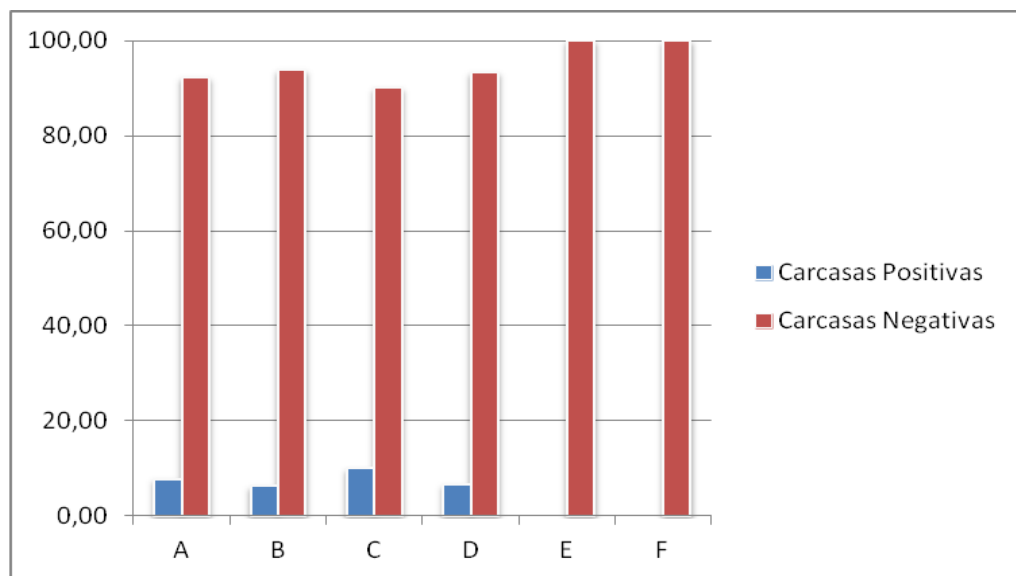


El total de muestras recolectadas procedieron de 6 granjas distintas: A, B, C, D, E y F (Figura 3) ubicadas en Lurín, Puente Piedra, Huaral, Aucallama y Chilca en el departamento de Lima. Siendo el porcentaje de positividad de 7.78% (7/90) para la granja A; 6.25% (5/80) para B; 10% (3/30) para C; y 6.67% (4/60) para D. Las muestras procedentes de las granjas E y F fueron negativas al aislamiento de *Salmonella*.

Cuadro 14. Porcentaje de animales positivos al aislamiento de *Salmonella* según granja muestreada.

Identificación de la granja	Procedencia de la granja	Porcentaje de Positivos (%)
A	Aucallama	7.78
B	Lurín	6.25
C	Huaral	10.0
D	Puente Piedra	6.67
E	Chilca	0.0
F	Aucallama	0.0

Figura 3. Porcentaje de carcasas positivas según granja de procedencia.



4.1 Identificación bacteriana

Los aislados sospechosos de *Salmonella* spp., fueron los que poseían las colonias de color negro, con bordes transparentes y viraje de color del medio a fucsia en agar Xilosa Lisina Desoxicolato, y a amarillo, en agar *Salmonella-Shigella*. A dichos aislados se les realizó las pruebas bioquímicas correspondientes, además de ser serotipificados con el uso de antisueros específicos.

4.2 Pruebas bioquímicas:

Se determinó que los 21 aislados pertenecían a la especie *Salmonella enterica* subespecie *enterica* mediante pruebas bioquímicas. Las pruebas bioquímicas utilizadas y los resultados se encuentran en el Cuadro 13.

Cuadro 13. Resultados de pruebas bioquímicas de los aislados

Pruebas bioquímicas	Resultados
SH ₂	+
Glucosa	+
Sacarosa	-
Lactosa	-
Gas	+
Lisina	+
Citrato	+
Movilidad	+
Indol	-
Urea	-
Dulcitol	+
Mucato	+
Tartrato de Jordan's	+

*Lectura a las 24 horas

Cabe mencionar, que de las muestras procesadas también se aislaron: *Citrobacter* sp., *Proteus* sp. y *Escherichia coli*.

4.3 Identificación serológica

Los aislados fueron serotipificados con pruebas de aglutinación somática y flagelar, mediante el uso de antisueros específicos. Todos los aislados, independientemente de su procedencia, tuvieron la siguiente fórmula antigénica (según el esquema de Kauffman – White): 1,4,[5],12:f,g:[1,2] que corresponde a *Salmonella enterica* subesp. *enterica* serovar Derby.

V-DISCUSIÓN

De las carcasas analizadas en el presente estudio, se aisló *Salmonella* spp. en un 6.3% (19/300). Este porcentaje, constituye un riesgo de infección en los procesos alimenticios derivados de la carne porcina y tiene gran importancia económica, ya que en el comercio internacional, existen normativas que prohíben la presencia de *Salmonella* spp. en alimentos destinados al consumo humano, las cuales indican que cepas de *Salmonella* spp. deben de estar ausentes en 25 gramos de carne (*Salmonella* Project Group, 2000).

Los resultados de este trabajo (6.3% de carcasas positivas) son cercanos a los reportado para Dinamarca, donde Arguello *et al.*, (2013) reportan un 3.2% (14/438) de prevalencia en carcasas porcinas; así como Aragaw *et al.* (2007), quienes reportan una prevalencia de 4% en carcasas porcinas en Etiopía. En Europa, Swanenburg *et al.*, (2001), en un estudio realizado en plantas de beneficio de Holanda, hallaron una prevalencia de *Salmonella* spp. en un 10% de las carcasas. Sin embargo, difieren de lo reportado en otros países (Cuadros 4 y 5). Así, Hotes *et al.*, (2010) demostraron una prevalencia de *Salmonella* de 15.7% en jugos cárnicos provenientes de carcasas porcinas en Alemania. En Colombia, Mora (2003), en un estudio realizado en plantas de beneficio de Bogotá, encontró una prevalencia de *Salmonella* spp. en carcasas de 27.2%. De la misma manera, Mejía (2007) en plantas de beneficio de la misma ciudad, demostró una prevalencia de 37.82% (60/156 carcasas).

A partir de la serotipificación de los aislados, se identificó únicamente al serotipo *Salmonella* Derby. Esta serovariedad es la segunda más frecuente, de acuerdo con Ariza *et al.* (1982) quienes reportaron la frecuencia de serotipos de *Salmonella* aislados en

cerdos de América latina, siendo estos *Salmonella* Typhimurium (13.74%), *S. Derby* (11.34%), *S. Sandiego* (4.46%) y *S. Paratyphi* (3.43%). A su vez estudios realizados en Dinamarca, demuestran que los principales aislamientos a partir de carcasas son *Salmonella* Typhimurium y *Salmonella* Derby (Sorensen, 2004). De igual manera, Rostagno *et al.* (2006) afirman que estos serotipos son frecuentemente aislados en la mayoría de estudios desarrollados en camales.

Existe gran variedad de serotipos con relevancia epidemiológica en función de la ubicación geográfica y el tipo de muestreo, por ejemplo en Midwest - Estados Unidos, Bahnson *et al.* (2006) reportan al serotipo Derby (23.2%) como el más frecuente en mataderos, seguido por 12.1% de *S. Typhimurium*, lo cual concuerda con el presente estudio. Así también, en granjas ubicadas en Francia, entre los años 2003 y 2004, Fablet *et al.* (2006) aislaron varios serotipos de *Salmonella*, siendo el más frecuente *Salmonella* Derby, seguido por *S. Typhimurium*. Davies *et al.* (1997), en Carolina del Norte, encontraron que *Salmonella* Derby es el serotipo más común en muestras de heces de porcinos (20/34). Esto podría apoyar la idea de que la contaminación de las carcasas muestreadas, fue con el contenido intestinal debido a un mal eviscerado.

Se ha demostrado que *Salmonella* Typhimurium y *Salmonella* Derby son los serotipos más comunes en productos porcinos reconocidos como fuente de transmisión de la salmonelosis humana (Berends *et al.*, 1997; Gebreyes *et al.*, 2004). A su vez, en España, se ha relacionado el aislamiento de cepas de *S. Derby* de muestras clínicas de origen humano con el consumo de productos derivados del ganado porcino, lo que demuestra la importancia de este serotipo en la salud pública (Echeita *et al.*, 2005).

Con relación al número de aislamientos de *Salmonella* spp. según el sitio de muestreo, el análisis bacteriológico mostró un alto porcentaje de aislamientos a partir de las muestras de la cabeza 33.33% (7/21), al igual que en el vientre 33.33% (7/21), seguidos por el lomo 23.81% (5/21) y la pierna 9.52% (2/21).

La mayor cantidad de aislamientos a partir de la cabeza podría atribuirse a la disposición vertical de la carcasa, con la cabeza hacia el suelo, permitiendo que por gravedad todos los fluidos como agua o sangre se depositen allí, creando un microhábitat para microorganismos como *Salmonella* spp. Durante el muestreo, se observó que en ocasiones la cabeza de los cerdos llegó a tener contacto con el suelo, lo que la podría haber expuesto a una mayor contaminación. El porcentaje alto de aislados

en el vientre podría deberse a que es la zona primaria de contacto con las vísceras del animal. Un mal eviscerado, podría ocasionar la contaminación de esa zona, antes que cualquier otra de la carcasa. El menor porcentaje fue encontrado en lomo y pierna, posiblemente debido a que durante el proceso de sacrificio, son las zonas más expuestas al lavado, flameado y raspado.

Kim *et al.*, (1999), demostraron una relación entre el aislamiento de *Salmonella* spp. en las granjas porcinas y el aislamiento de la misma de carcasas; similar a lo reportado por Gebreyes *et al.*, (2004) quienes sustentan que la contaminación de los cerdos con *Salmonella* empieza cuando los animales dejan el sistema de producción, explicando la contaminación hallada en las plantas de beneficio. Los autores sustentan que las características sanitarias de la granja de origen tienen una fuerte asociación con la positividad en los camales.

Muchos estudios sugieren que la contaminación cruzada durante el sacrificio de los animales es una fuente importante de contaminación con *Salmonella* para las carcasas de animales de lotes seronegativos (Swanenburg *et al.*, 2001) y la alta prevalencia de *Salmonella* spp. en las superficies de las carcasas son indicativo de defectos en el equipo o higiene pobre en la línea de beneficio (Käsbohrer *et al.*, 2000).

Por otra parte, Berends *et al.*, (1997), describen una asociación estadística nula ($P > 0.10$) entre la prevalencia de *Salmonella* en nódulos linfáticos mesentéricos (seropositivos) y la contaminación de la carcasa. De la misma manera, Letellier *et al.*, (2009) demostraron que en el 43.4% de los casos (56/129), la serología fue negativa a *Salmonella* mientras las carcasas fueron positivas, lo cual sugiere una contaminación reciente de los animales durante el transporte o contaminación cruzada de las carcasas en las plantas de sacrificio.

El proceso de sacrificio y las condiciones en las cuales se realice, podrían determinar el nivel de contaminación de las carcasas. Es importante considerar la contaminación cruzada entre carcasas contaminadas y limpias, lo que podría facilitarse por el sacrificio de lotes provenientes de distintas granjas, que podrían tener alta o baja prevalencia de *Salmonella*. La ausencia de un programa de monitoreo y control para la salmonelosis a nivel de granja, facilitaría entonces, la contaminación durante el sacrificio, entre lotes infectados y no infectados.

En los camales muestreados, es común que las carcasas queden suspendidas en el área de oreo, y que sean manipuladas de manera excesiva al empujar las carcasas a lo largo de los rieles, sin el uso de guantes, facilitando la transmisión de agentes infecciosos a las carcasas. Este proceso se agrava en el eviscerado, pues no hay una desinfección adecuada de las herramientas usadas, y no hay una rotación adecuada de éstas entre lotes de animales. Otros factores de riesgo importante que se observó, y que puede asociarse con la presencia de *Salmonella*, son la higiene del personal del camal, la limpieza de los pisos, el flujo de animales, insectos, aves silvestres, temperatura mal manejada, densidad de animales y el estado sanitario de los mismos.

La seguridad alimentaria es muy importante, incluso más que la productividad y beneficio de la industria porcícola, por ello se debe desarrollar programas de control de *Salmonella*, incluyendo estrategias de monitoreo, prevención y tratamiento. Es importante concientizar al personal manipulador de carne porcina de emplear las buenas prácticas de manufactura; ya que algunos estudios han demostrado que el número de microorganismos de *Salmonella* spp. en la superficie de las carcasas podrían reducirse con procedimientos cuidadosos en el sacrificio como escaldado individual y eliminación cuidadosa del intestino (Nowak *et al.*, 2007).

Determinar las causas exactas de la presencia de *Salmonella* en plantas de beneficio es una tarea ardua y requiere de un estudio de monitoreo y vigilancia mediante estrategias como seguimiento de animales desde la granja hasta el proceso de sacrificio, tomas de muestra en los camiones usados para el transporte, corrales, agua, muestras ambientales de granja y mataderos. Este estudio demuestra la necesidad de trabajar en programas de control para la salmonelosis en porcinos que involucre toda la cadena productiva, así como la vigilancia activa en cada granja sobre la presencia de *Salmonella* spp.

VI-CONCLUSIONES

1. El 6.3% (19/300) de las carcasas porcinas muestreadas en dos camales de Lima Metropolitana presentó contaminación por *Salmonella* spp.
2. Todos los aislados obtenidos fueron identificados como *Salmonella enterica* subespecie *enterica* serovar Derby sin importar la procedencia de la muestra.

LITERATURA CITADA

Althouse C, Patterson S, Fedorka-Cray P, Isaacson RE. 2003. Type 1 *Fimbriae* of *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium Bind to Enterocytes and Contribute to Colonization of Swine In Vivo. *Inf Immun*; 71: 6446–6452.

American Public Health Association. 1984. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 2nd ed.

Aragaw K, Molla B, Muckle A, Cole L, Wilkie E, Poppe C, Kleer J, G. Hildebrandt G. 2007. The characterization of *Salmonella* serovars isolated from apparently healthy slaughtered pigs at Addis Ababa abattoir, Ethiopia. *Prev Vet Med*, 2007; 82: 252–261

Araújo AB, Carballo J. 2003. *Salmonella* spp.: Principales características, adherencia a sus superficies de contacto con alimentos y su control. *Alimentaria*;35:45-51.

Arcos E, Mora L, Fandiño L. 2013. Prevalencia de *Salmonella* spp. En carne Porcina, plantas de beneficio y expendios del Tolima. Universidad de los Llanos – Villavicencio, Meta. Colombia Vol. 17 – No 1.

Arguello H, Sorensen G, Carvajal A, Baggesen DL, Rubio P, Pedersen K. 2013. Prevalence, serotypes and resistance patterns of *Salmonella* in Danish pig production. *Res. Vet. Sci.* [Internet], [09 de enero del 2014]. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.rvsc.2013.04.001>

Ariza F, Ariza L. 1982. Prevalencia de *Salmonella* spp. en cerdos aparentemente normales traídos a dos mataderos de Bogotá DC. Trabajo de grado. Universidad Nacional de Colombia.

Atlas RM, Parks LC. 2004. Handbook of Microbiology Media, 921.

Bahnson P, Damman D, Isaacson R, Millar G, Weigel R, Troutt F. 2006. Prevalence of serovars of *Salmonella enterica* isolated from ileolic lymph nodes of market pigs reared in selected Midwest US swine herds. *Journal of swine Health and Production*. July and August. p 182.

Baloda SB, Christensen L, Trajcevska S. 2001. Persistence of a *Salmonella enterica* serovar typhimurium DT12 clone in a piggery and in agricultural soil amended with *Salmonella*-contaminated slurry. *Appl Environ Microbiol*; 67: 2859- 2862.

Bello J, García-Jalón MI, López de Cerain A. 2000. Fundamentos de seguridad alimentaria (aspectos higiénicos y toxicológicos). Navarra: Ediciones Eunate.

Beloeil PA, Chauvin C, Proux K, Madec F, Fravallo P, Alioum A. 2004. Impact of the *Salmonella* status of market-age pigs and the pre-slaughter process on *Salmonella* caecal contamination at slaughter. *Vet Res*; 35: 513–530.

Beran GW, Baum DH. 1997. Food Safety Begins at the Farm. Research Report. Iowa State University. Department of Animal Science. [Internet], [15 de noviembre del 2013]. Disponible en: <http://www.extension.iastate.edu/Pages/ansci/swinereports/asl-1512.pdf>

Berends BR, Urlings HA, Snijders JMA, Knapen F. 1996. Identification and quantification of risk factors in animal management and transport regarding *Salmonella* spp. In pigs. *International Journal of Food Microbiology*; 30:37-53.

Berends BR, Van Knapen F, Snijders JM, Mossel DA. 1997. Identification and quantification of risk factors regarding *Salmonella* spp. on pork carcasses. *Int J Food Microbiol*, 1997; 36: 199-206.

Bolton DJ, Pearce RA, Sheridan JJ, Blair IS, McDowell DA, Harrington D. 2002. Washing and chilling as critical control points in pork slaughter hazard analysis and critical control point (HACCP) systems. *Journal of Applied Microbiology*; 92(5): 893-902.

Bonardi S, Brindani F, Pizzin G, Lucidi L, D’Incau M, Liebana E, Morabito S. 2003. Detection of *Salmonella* spp., *Yersinia enterocolitica* and verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 in pigs at slaughter in Italy. *International Journal of Food Microbiology*; 85:101-110.

Borch E, Nesbakken T, Christensen H. 2002. Hazard identification in swine slaughter with respect to foodborne bacteria. *International Journal of Food Microbiology*; 30:9-25.

Botteldoorn N, Heyndrickx M, Rijpens N, Grijspeerdt K, Hernan L. 2003. *Salmonella* on pig carcasses: positive pigs and cross contamination in the slaughterhouse. *Journal of Applied Microbiology*; 44:347-354.

Brock T. 1999. Robert Koch: a life in medicine and bacteriology. American Society for Microbiology. Washington DC.

Caffer M, Terragno R. 2001. Manual de Procedimientos para la Caracterización de *Salmonella*. Instituto Nacional De Enfermedades Infecciosas. Buenos Aires.

Caffer MI, Terragno R, Binsztein N. 2008. Manual de procedimientos: Diagnóstico y caracterización de *Salmonella* spp. Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas

A.N.L.I.S. “Carlos Malbrán”, Buenos Aires, Argentina. Centro Regional de Referencia del WHO Global Salm Surv para América del Sur.

Carvajal A, de Arriba ML, Pozo J, Vidal A, Rubio P. 2000. Situación actual de la patología digestiva en cerdos en España. *Información Veterinaria*. [Internet], [15 de junio del 2013]. Disponible en: http://www.colvet.es/infovet/oct00/ciencias_v/articulo1.htm.

CDC (Centers for Disease Control and Prevention), 2006. Preliminary FoodNet Data on the Incidence of Infection with Pathogens Transmitted Commonly Through Food - 10 States, United States, 2005. *Morbidity and Mortality Weekly Report*, 55: 392-395. [Internet] [10 de Julio 2012]. Disponible en: <http://www.cdc.gov/mmwr>

CE. 2000. Opinion of the Scientific Committee on Veterinary Measures Relating to Public Health on Food-Borne Zoonoses. [Internet], [08 de agosto del 2013]. Disponible en: http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scv/out32_en.pdf.

Christensen J, Luthje H. 1994. Reduced Spreads of pathogens as a result of changed pluck removal technique. *Proc. 40th Int. Congress Meat Sci. Technol*, Hague, Holland, S-III.06.

Coma J. 2001. Control de *Salmonella* en carne de porcino: Efecto de la alimentación animal. CVII Curso de Especialización FEDNA sobre Avances en Nutrición y Alimentación Animal. Madrid.

D'Aoust JY, Maurer J. 2007. *Salmonella* species. En: *Food Microbiology. Fundamentals and Frontiers*. Third edn. (Doyle, M.P. & Beuchet, L. R., eds.). ASM Press-Washington, D.C. pp. 187-236.

Dahl J, Wingstrand A, Nielsen B. 1997. Elimination of *Salmonella* Typhimurium infection by the strategic movement of pigs. *Vet. Rec.* 140: 679-681.

Davies RH, McLaren IM, Bedford S. 1999. Observations on the distribution of *Salmonella* in pig abattoirs. *Veterinary Record*; 145(23):655–661.

Delgado MC, Guedeja-Marrón J, Jiménez V, Rivas AM. 2005. Control de *Salmonella* en carne de cerdo: empleo de ácidos orgánicos como sistema de reducción de patógenos. III Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Burgos, 29 de mayo al 1 de junio.

Doyle MP, Beuchat LR, Montville TJ. 2000. *Microbiología de los Alimentos: Fundamentos y fronteras*. Zaragoza: Editorial Acribia.

Eblen DR, Levine P, Rose BE, Saini P, Mageau R, Hill WE. 2005. Nationwide Microbiological Baseline Data Collected by Spongue Sampling during 1997 and 1998 for Cattle, Swine, Turkeys, and Gesse. *Journal of Food Protection*; 68(9): 1848-1852.

Edwards P, Edwing WH. 1972. *Identification of Enterobacteriaceae*. Tercera Ed. p146-224.

EFSA, 2007. The Community Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents, Antimicrobial Resistance and Foodborne Outbreaks in the European Union in 2006. The EFSA Journal (2007) 130.

Eley AR. 1994. Intoxicaciones alimentarias de etiología microbiana. Zaragoza: Editorial Acribia.

Erickson MC, Islam M, Shepard C, Liao J, Doyle MP. 2004. Reduction of *Escherichia coli* 0157:H7 and *Salmonella enterica* serovar Enteritidis in chicken manure by Larvae of Black Soldier Fly. Journal of Food Protection; 67(4):685-690.

Fablet C, Robinault C, Eono F, Dorenlor V, Labbé A, Fravallo P, Madec F. 2006. Factors associated with *Salmonella* contamination of finishing facilities following cleaning and disinfection procedure. Proceedings of the 19th IPVS Congress. Copenhagen, Denmark. Volumen 2. pp. 366.

Falkow S y Mekalanos J. 1996. Bacilos entéricos y vibrios. En: Davis BD, Dulbecco R, Eisen HN y Grisberg HS, editores. Tratado de Microbiología. 4ta edición. Barcelona: Masson: 541-66.

Fica A, Fernández A, Prat P, Figueroa O, Gamboa R, Tsunekawa I, Heitman I. 1997. *Salmonella* Enteritidis, un patógeno emergente em Chile. Rev Méd Chile; 544-51 pp

Fablet C, Beloeil PA, Fravaol P, Jolly JP, Eveno E, Hascoet Y, Salvat G, Madec F. 2003. Etude des circonstances associées á 1 excréation de *Salmonella* Entérica par les porcs em croissance. Journées de la Recherche Porcine. 35 : 401-408.

Forsythe SJ. 2003. Alimentos seguros: microbiología. Zaragoza: Editorial Acribia.

Fos S, Vendrell W, Minardi R, Morales M, Llopis A. 2000. Enfermedades parasitarias de origen alimentario más frecuentes en España: incidencia y comparación con las de origen vírico y bacteriano. Ars Pharmaceutica; 41(3):293-305.

Frazier WC, Westhoff DC. 1993. Microbiología de los alimentos. Zaragoza: Editorial Acribia.

Frosbisher, M y Fuerts R. 1978. Microbiología de Frobisher y Fuerts. 14^a edición. Mexico: Interamericana:294-316.

Frutos C, Ortiz E, Herrero A, Ayala JL, Fernández B. 2005. Análisis de los serotipos de *Salmonella* spp. aislados durante los años 2002, 2003 y 2004 por los laboratorios de Sanidad Animal en España. Boletín Epidemiológico Semanal; 13: 133-136.

Garriga M, Marcos B, Aymerich T, Hugas M. 2003. Prospectiva de aplicación de altas presiones para la minimización de riesgos asociados a *Salmonella* y *Listeria monocytogenes* en embutidos madurados en frío. Eurocarne; 121:93-99.

Gebreyes WA, Davies PR, Turkson PK, Morrow WEM, Funk JA, Altier C. 2004. *Salmonella enterica* serovars from pigs on farms and alter slaughter and validity of

using bacteriologic data to define herd *Salmonella* status. *Journal of Food Protection*; 67(4);691-697.

Gray JT, Fedorka-Cray PJ, Stabel TJ, Kramer TT. 1996. Natural Transmission of *Salmonella choleraesuis* in Swine. *Appl Environ Microbiol* ; 62: 141–146.

Grimont PA, Weill FX. 2007. Antigenic formulas of the *Salmonella* serovars. 9th ed. WHO Collaborating Centre for Reference and Research on *Salmonella* – Instituto Pasteur, París. Francia.

Giovannacci I, Ragimbeau C, Queguiner S, Salvat G, Vendevre JL, Carlier V, Ermel G. 2001. Tracing of *Salmonella* spp. in two pork slaughter and cutting plants using serotyping and macrorestriction genotyping. *Journal of Applied Microbiology*; 90: 131-147.

Guedeja-Marrón J, Delgado MC. 2005. *Salmonella* control in poultry: legal frame for decontamination treatment on fresh poultry-meat. I Congreso Internacional de Seguridad Alimentaria. Murcia, 17-19 de noviembre.

Guedeja-Marrón J, García V, González AM. 2006. Efecto de las modificaciones estructurales en la contaminación microbiana de las carcasas en un matadero de porcino. CYTALIA XI: Congreso Anual de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Madrid, 29 de marzo-1 de abril.

Hald T, Vose D, Wegener HC, Koupeev T. 2004. A Bayesian Approach to Quantify the Contribution of Animal-Food Sources to Human Salmonellosis. *Risk Analysis*; 24: 255-269.

Hoorfar J, Mortensen AV. 2000. Improved culture methods for isolation of *Salmonella* organisms from wine feces. *Am. J. Vet. Res.* Nov;61(11):1426-9.

Hoszowski A, Wasyl D. 2002. *Salmonella* serovars found in animals and feeding stuffs in 2001 and their antimicrobial resistance. *Bull. Vet. Inst. Pulawy* ; 46: 165- 178.

Hotes S, Kemper N, Traulsen I, Rave G, Krieter J. 2010. Risk factors for *Salmonella* infection in fattening pigs – An evaluation of blood and meat juices samples. *Zoonoses Public Health*, 2010; 57:30-38.

Hurd HS, McKean JD, Wesley IV, Karriker LA. 2001. The effect of lairage on *Salmonella* isolation from market swine. *Food Prot* ; 64: 939-44.

Hurd HS, McKean JD, Griffith RW, Wesley IV, Rostagno MH. 2002. *Salmonella* Enterica infections in market swine and without transport and holding. *Applied and Environmental Microbiology*; 68(5):2376-2381.

ICMSF. 1998. Microorganismos de los alimentos: Características de los patógenos microbianos. Zaragoza: Editorial Acribia.

Imberechts H, Dierick K. 2004. Report on Zoonotic Agents in Belgium 2002. Belgium: Veterinary and Agrochemical Research Centre. Scientific Institute of Public Health.

Irino K, Fernnandes SA, Tavecchi AT, Neves BC, Díaz AM. 1996. Progression of *Salmonella* Enteritidis paghe type 4 strains in Sao Paulo State. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*; 38: 193-6.

ISO 6579. 2002. Microbiology - General guidance on methods for the detection of *Salmonella*, International Organization for Standardization, Geneve, Switzerland. 4rd ed.

Jensen AN, Lodal J, Baggesen DL. 2004. High diversity of *Salmonella* serotypes found in an experiment with outdoor pigs. *NJAS Wageningen Journal of Life Sciences* ; 52: 109-117.

Käsbohrer A, Protz D, Helmuth R, Nöckler K, Blaha T, Conraths FJ, Geue L. 2000. *Salmonella* in slaughter pigs of German origin: An epidemiological study. *Eur J Epidemiol*; 16: 141-146.

Kim JY, Bahnson PB, Troutt HF, Isaacson RE, Weigel RM, Miller GY. 1999. *Salmonella* prevalence in market weight pigs before and after shipment to slaughter. En: Proceedings of the 3rd International Symposium on the Epidemiology and Control of *Salmonella* in Pork, Washington, D.C., August 5-7.

Kingsley RA, Bäumler AJ. 2000. Host adaptation and the emergence of infectious disease: the *Salmonella* paradigm. *Mol Microbiol* ; 36: 1006-1014.

Korsak N, Daube G, Ghafir Y, Chahed A, Jolly S, Vindevogel H. 1998. An efficient sampling technique used to detect four foodborne pathogens on pork and beef carcasses in nine Belgian abattoirs. *Journal of Food Protection*; 61:535-541.

Krunker S, Alban L, Boes J, Dahl J. 2003. Longitudinal study of *Salmonella enterica* serotype Typhimurium infection in three Danish farrow-to-finish swine herds. *Clin Microbiol* ; 41: 2282-2288.

Le Minor L, Veron M y Popoff M.1982. Proposition pour une nomenclature des *Salmonella*. *Ann Microbiol (Inst. Pasteur)* 133B:245-54.

Letellier A, Beauchamp G, Guévremont S, D'allaire S, Hurnik D, Quessy S. 2009. Risk Factors at Slaughter Associated with Presence of *Salmonella* on Hog Carcasses in Canada. *J Food Protection*, 2009; 72(11): 2326–2331

Lindner, E. 1995. Toxicología de los Alimentos. . Acribia. Zaragoza.2^a ed. 262 pp

López-Brea M, Meseguer MA y Baquero M.1980. Frecuencia de aislamiento en coprocultivo y hemocultivo de las distintas especies del género *Salmonella*. Madrid: Revista de Sanidad e Higiene Pública.

Mainar J, Atashparvar N, Chirino M, Rahn K. 2008. Survey on *Salmonella* prevalence in slaughter pigs from Saskatchewan. *Can J Vet Res*; 49: 793-796.

Malorny B, Hoorfar J. 2005. Toward Standardization of Diagnostic PCR Testing of Fecal Samples: Lessons from the Detection of *Salmonellae* in Pigs. *J Clin Microbiol*; 43: 3033–3037.

Mannion C, Fanning J, McLernon J, Lendrum L, Gutiérrez M, Duggan S, Egan J. 2012. The role of transport, lairage and slaughter processes in the dissemination of *Salmonella* spp. in pigs in Ireland. *Food Research International*, 45: 871–879.

McConkey A. 1905. Lactose-fermenting bacteria in faeces. *J.Hyg.*, 8; 333-379.

McKean, J.D. 2001. Evaluation of Antemortem *Salmonella* Detection Procedures in Market Weight Swine (Project Final Report). Iowa State University. [Internet], [04 de diciembre del 2013]. Disponible en: <http://www.pork.org/PorkScience/Documents/00-098-McKean.pdf>.

McKinley GA, Fagerberg DJ, Quarles CL, George BA, Wagner DE, Rollins LD. 1980. Incidence of *Salmonellae* in Fecal Samples of Production Swine and Swine at Slaughter Plants in the United States in 1978. *Appl Environ Microbiol*; 40: 562-566.

MacQuinston JR, Fields P, Tauxe RV, Logsdon JM. 2008. Molecular phylogeny of the *Salmonellae*: relationship among *Salmonella* species and subspecies determined

Mead GC. 1994. Microbiological hazards from red meat and their control. *Br Food J*; 96: 33-36.

Medema GJ, Teunis PFM, Havelaar AH, Haas CN. 1996. Assesment of the dose-response relationship of *Campylobacter jejuni*. *International Journal of Food Microbiology*; 30: 101-111.

Mejía DC. 2007. Aplicación de métodos microbiológicos en planta de sacrificio para la detección de *Salmonella* spp. en canales porcinas. (Tesis de Pregrado). Colombia. Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias.

Mejía Silva WJ. 2003. Epidemiología de la salmonelosis porcina en granjas de Cataluña y determinación de los factores de riesgo de la infección. Tesis doctoral. Facultad de Veterinaria de la Universidad Autónoma de Barcelona. 109 pp.

Mora A. 2003. Evaluación de la prevalencia de *Salmonella* spp en jugos cárnicos de porcinos sacrificados en las plantas de beneficio de Bogotá D.C (Tesis Pregrado). Colombia. Universidad Nacional de Colombia.

Moustardier G. Bacteriologie Medicale. 1976. Paris: Librairie Maloinle S.A. Editeur;698-722.

Mürmann L, dos Santos MC, Cardoso M. 2009. Prevalence, genetic characterization and antimicrobial resistance of *Salmonella* isolated from fresh pork sausages in Porto Alegre, Brazil. *Food Control*, 20:191–195.

Nowak B, von Müffling T, Chaunchom S, Hartung J. 2007. *Salmonella* contamination in pigs at slaughter and on the farm: A field study using an antibody ELISA test and a PCR technique. *Int J Food Microbiol*, 2007; 115: 259–267.

OEEE (Oficina de Estudios Económicos y Estadísticos). 2012. Producción Pecuaria e Industria Avícola. Ministerio de Agricultura,. p:66.

Parra M, Durango J, Mattar S. 2002. Microbiología, patogénesis, epidemiología, clínica y diagnóstico de las infecciones producidas por *Salmonella*. MVZ Córdoba. 7 (2): 235-340.

Prendergast DM, Grady DO, McCann A, McCabe E, Fanning S, Egan J, Fanning J, Gutierrez M. 2010. Application of PCR for rapid detection and serotyping of *Salmonella* spp. from porcine carcass swabs following enrichment in semi-solid agar, *Food Research International*. [Internet], [3 de diciembre de 2011]. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996910002942>.

Raffatellu M, Chessa D, Wilson R, Tukel C, Akcelic M, Baumler A. 2006. Capsule-mediated immune invasion: A new hypothesis explaining aspects of typhoid fever pathogenesis. *Infect Immun*. 74: 19-27.

Reeves M.W., Evins G.M., Heiba A.A., Plikaytis B.D., Farmer J.J. 1989. 3rd. Clonal nature of *Salmonella* typhi and its genetic relatedness to other *Salmonella* e as shown by multilocus enzyme electrophoresis, and proposal of *Salmonella bongori* comb. nov. *J. Clin. Microbiol*. 27: 313-320

Rodríguez DC, Cameron DN, Phur ND, Brenner FQ, Louis ME, Wachsmuth KI, Tauxe RV. 1992. Comparison of plasmid profiles, phage types and antimicrobial resistance patterns of *Salmonella* Enteritidis isolates in United States. *J Clin Microbiol*; 30:854-7.

Rostagno MH, Hurd HS, McKean JD, Ziemer CJ, Gailey JK, Leite RC. 2003. Preslaughter holding environment in pork plants is highly contaminated with *Salmonella enterica*. *Applied and Environmental Microbiology*; 69(8):4489-4494.

Rostagno M, Hurs S, McKean J. 2006. American Association of Swine Veterinarians. P 439.

Saide –Albornoz JJ, Knipe CL, Murano EA, Beran GW. 1995. Contamination of pork carcasses during slaughter, fabrication, and chilled storage. *Journal of Food Protection*; 58(9): 993-997.

Salmonella Project Group. 2000. Pre-harvest and Harvest Control Options based on Epidemiologic, Diagnostic and Economic Research. Final Report. D.M.A. Lo Fo Wong & T. Hald (eds.). Danish Veterinary Laboratory, Copenhagen, Dinamarca. 266 pp.

Sarwari AR, Magder LS, Levine P, McNamara AM, Knowler S, Armstrong GL, Etzel R, Hollingsworth J, Morris JG. 2001. Serotype Distribution of *Salmonella* Isolates from Food Animals after Slaughter Differs from That of Isolates Found in Humans. *J Inf Dis* 2001; 183: 1295–1299.

Schwartz KJ. 1991. Salmonellosis in swine. *Compend Contin Educ* 13(1): 139-148.

Silva J. 2000. *Salmonella* Enteritidis un patógeno emergente de origen aviario. *Rev Cs Salud*;4 :25-36.

Sorensen L, Alban L, Nielsen B. 2004. The correlation between *Salmonella* serology and isolation of *Salmonella* in Danish pigs at slaughterhouses. *Veterinary Microbiology* 101. pp. 131-141.

Swanenburg M, Urlings HAP, Snijders JMA, Keuzenkamp DA, Knapen F. 2001. *Salmonella* in slaughter pigs: prevalence, serotypes and critical control points during slaughter in two slaughterhouses. *International Journal of Food Microbiology*; 70: 2433-254.

Tillier ER, Collins RA. 2000. Genome Rearrangement by replication-directed translocation. *Nat. Genet.* 26:195-197.

Tindall B.J., Grimont P.A., Garrity G.M., Euzéby J.P. 2005. Nomenclature and taxonomy of the genus *Salmonella* . *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 55: 521-524.

Uribe C., Suárez MC. 2006. Salmonelosis no tifoidea y su transmisión a través de alimentos de origen aviar. *Colomb. Med.* 2006 June; 37(2): 151-158. [Internet], [15 julio 2012]. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1657-95342006000200011&lng=en.

Valdezate S, Vidal A, Herrera-León S, Pozo J, Rubio P, Usera MA, Carvajal A, Echeita MA. 2005: *Salmonella* Derby clonal spread from pork. *Emerg. Infect. Dis.* 11, 694– 698.

Van Duijkeren E, Wannet WJ, Houwers DJ, Van Pelt W. 2002. Serotype and Phage Type Distribution of *Salmonella* Strains Isolated from Humans, Cattle, Pigs, and Chickens in The Netherlands from 1984 to 2001. *J Clin Microbiol*; 40: 3980–3985.

Willeberg P. 2000. *Salmonella* in pork (SALINPORK): Pre-harvest and Harvest control options based on Epidemiologic, Diagnostic and Economic Research. European Commission. Final Report.

Wonderling L, Pearce R, Wallace FM, Call JE, Feder I, Tamplin M, Luchansky JB. 2003. Use of pulsed-field gel electrophoresis to characterize the heterogeneity and clonality of salmonella isolates obtained from the carcasses and feces of swine at slaughter. *Appl Environ Microbiol*; 69: 4177-4482.